



Naturalis

Repositorio Institucional

<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar>

Universidad Nacional de La Plata

Facultad de Ciencias Naturales y Museo



Parasitismo de huevos de *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae) por *Trissolcus basalis* y *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae) en el noreste de la provincia de Buenos Aires

Cingolani, María Fernanda

Doctor en Ciencias Naturales

Dirección: Liljesthröm, Gerardo Gustavo

Co-dirección: Greco, Nancy Mabel

Facultad de Ciencias Naturales y Museo

2012

Acceso en:

<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar/id/20120508001244>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional



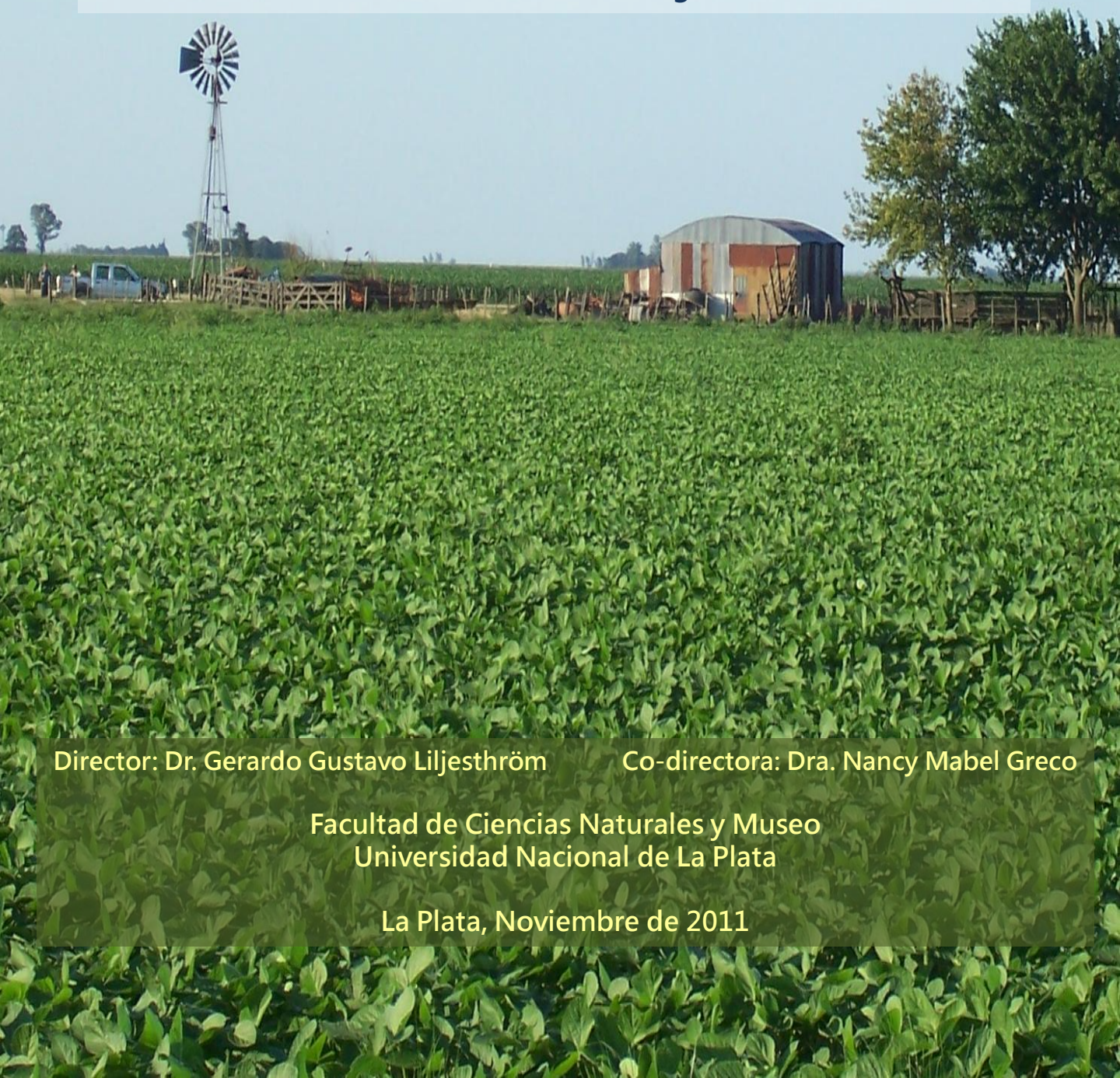
Naturalis

Repositorio Institucional
FCNyM - UNLP



**PARASITISMO DE HUEVOS DE
Piezodorus guildinii (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)
POR *Trissolcus basalis* Y *Telenomus podisi*
(HYMENOPTERA: SCELIONIDAE)
EN EL NORESTE DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES
(Tesis Doctoral)**

Lic. María Fernanda Cingolani



Director: Dr. Gerardo Gustavo Liljesthröm

Co-directora: Dra. Nancy Mabel Greco

**Facultad de Ciencias Naturales y Museo
Universidad Nacional de La Plata**

La Plata, Noviembre de 2011

*No es el conocimiento, sino el acto de aprendizaje,
y no la posesión, sino el acto de llegar allí,
que concede el mayor disfrute.*

Carl Friedrich Gauss

A Jose por hacerme sentir inmensamente amada...

A Helena por perfeccionar ese amor...

A mis viejos por toda la vida...

A Tincho por su amor incondicional...

A Neni, Guille y toodos mis cuñados y sobrinos que completan mi máspreciado tesoro...

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecerle a Gerardo por sus enseñanzas, que en todo este tiempo fui aprendiendo a valorar.

También quiero agradecerle especialmente a Nancy por haber estado siempre dispuesta a ayudarme. Agradecerle por todo lo que me enseñó, con los dichos, y también con los hechos.

Les agradezco mucho a los dos por todo.

Quiero agradecerle a Eli Nieves, Fer Gugole, Nico Cluigt, Marga Rocca y Vivi Savino por todo lo vivido en este camino de la tesis : las “charlas de terapia grupal” en los almuerzos, los mates en el laboratorio 16, las idas al campo que tanto disfrutamos, y tanta risa compartida...

También quiero agradecerle a Martha Roggiero por iniciarme en esto de la cría de las chinches, y por cuidar de ellas cuando yo no he podido.

Quiero agradecer muy especialmente a Guillermo Doffo y Sofía Capasso, por la imprescindible ayuda que me han dado con las tareas de campo y de laboratorio.

También agradezco a Marta Loíacono y a Cecilia Margaría por enseñarme a identificar los parasitoides, y ayudarme con las determinaciones.

A Rodolfo Signorio y el personal de la Estación Experimental "Julio Hirschhorn" de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la UNLP, por su buena predisposición y colaboración con mis tareas de campo.

Le agradezco a TODO el grupo de Ecología de Plagas del CEPAVE todos los momentos compartidos (los científico-académicos y los otros), porque contribuyeron a forjar mi presente.

A los abuelos de Helenita... y a las señas de "Mamá Pata", porque sin ellos hubiera sido más difícil...

Les agradezco muy especialmente a Jose y a Hele por la paciencia, y por inyectarme todos los días la más poderosa de las vitaminas: el amor.

A todos los que, por las buenas o por las malas, me dejaron sus enseñanzas durante este largo andar...

INDICE

RESUMEN	01
ABSTRACT	06
INTRODUCCIÓN GENERAL	10
Marco teórico, hipótesis y predicciones	10
Objetivos	15
CAPÍTULO 1: Descripción del sistema de estudio	17
El cultivo de soja	17
<i>Piezodorus guildinii</i>	25
Esceliónidos parasitoides de pentatómidos	26
Área de estudio	30
CAPÍTULO 2: Parasitoides de huevos de <i>Piezodorus guildinii</i> en el noreste de la provincia de Buenos Aires: especies presentes y el impacto del parasitoidismo	32
Introducción	32
Objetivos	35
Materiales y métodos	36
Resultados y discusión	39
Parasitoidismo de <i>Piezodorus guildinii</i> por el conjunto de especies de parasitoides	45
Parasitoidismo de huevos de los otros pentatómidos	53
Parasitoidismo de <i>Piezodorus guildinii</i> por cada especie de parasitoide	53
CAPÍTULO 3: Desempeño de los parasitoides oófagos sobre huevos de <i>Piezodorus guildinii</i> y de <i>Nezara viridula</i> como hospedador alternativo	60
Introducción	60
Objetivos	63
Materiales y métodos	64

Resultados	66
Parasitoidismo causado por <i>Telenomus podisi</i> , <i>Trissolcus urichi</i> y <i>Trissolcus basalis</i> sobre huevos de <i>Piezodorus guildinii</i> y <i>Nezara viridula</i>	66
Parasitoidismo causado por avispas de distintas edades	68
Discusión	73
CAPÍTULO 4: Multiparasitoidismo de huevos de <i>Piezodorus guildinii</i> por <i>Telenomus podisi</i> y <i>Trissolcus urichi</i>	82
Introducción	82
Objetivos	85
Materiales y métodos	86
Resultados	89
Parasitoidismo por <i>Telenomus podisi</i> seguido de parasitoidismo por <i>Trissolcus urichi</i> (Tp+Tu)	89
Parasitoidismo por <i>Trissolcus urichi</i> seguido de parasitoidismo por <i>Telenomus podisi</i> (Tu+Tp)	89
Observaciones del comportamiento de oviposición de ambas especies	92
Discusión	92
CAPÍTULO 5: Efecto de la conservación en frío de los huevos de <i>Piezodorus guildinii</i> sobre el desempeño de <i>Telenomus podisi</i>	97
Introducción	97
Objetivos	100
Materiales y métodos	100
Resultados	101
Discusión	103
CONSIDERACIONES FINALES	105
REFERENCIAS	108

RESUMEN

El cultivo de soja ha experimentado una gran expansión en varios países, en los últimos 10 años. Los hemípteros fitófagos de la familia Pentatomidae, conocidos como “chinchas”, causan un importante daño sobre las semillas al alimentarse. En la Argentina, las especies más importantes son *Piezodorus guildinii*, *Nezara viridula*, *Edessa meditabunda* y *Dichelops furcatus*. Tanto en soja como en alfalfa *P. guildinii* es la más abundante en la actualidad, y la que más afecta a la calidad y la viabilidad de la semilla.

Los himenópteros parasitoides de la familia Scelionidae son los principales enemigos naturales de estas “chinchas”, y han sido utilizados como agentes de control biológico en varios países. Son endoparasitoides, oófagos, solitarios e idiobiontes y sus estados preimaginales se desarrollan dentro del huevo del hospedador, emergiendo el adulto de vida libre que se alimenta de néctar. Las hembras arrenotóquicas producen machos haploides o hembras diploides, y la relación de sexos en la progenie está sesgada hacia las hembras. *Telenomus podisi*, *Trissolcus urichi* y *Trissolcus basalis* atacan posturas de *P. guildinii* y también de *N. viridula*. En los cultivos de soja del área de estudio ambas “chinchas” coexisten, y los antecedentes indican a *P. guildinii* como el principal hospedador de *T. podisi* y de *T. urichi*, y a *N. viridula* como hospedador de *T. basalis*.

El impacto del parasitoidismo depende de la eficiencia en la detección de posturas del hospedador, así como de la eficiencia del parasitoidismo. El tamaño de la postura en particular puede influir en esta última, ya que si la respuesta del parasitoide es densodependiente directa, el impacto del parasitoidismo aumentará con el aumento de tamaño de la postura.

El desempeño de los parasitoides está influenciado por la calidad de la oferta de hospedadores, así como por estados particulares de la historia de vida del parasitoide, como ser la edad de la hembra al parasitar. A su vez, las características de las plantas pueden influir en el desempeño de los parasitoides, en el marco de las interacciones tritróficas. La capacidad de búsqueda y de selección de las hembras, así como el éxito reproductivo y la supervivencia, determinarán el rango de hospedadores del parasitoide. Otro factor que influye sobre la supervivencia preimaginal y la proporción de sexos es el

multiparasitoidismo, que implica competencia interespecífica entre las hembras o en la descendencia. El orden en el cual ocurren las oviposiciones de las distintas especies, y el lapso entre ellas podrían determinar el resultado de la interacción. El multiparasitoidismo puede ser ventajoso si los hospedadores son escasos y la carga de huevos del parasitoide es alta.

Desde el punto de vista aplicado, el uso exitoso de los parasitoides como agentes de control biológico aumentativo depende de la cantidad y de la calidad de los organismos liberados, lo que requiere una cría masiva adecuada. Una técnica para el sostenimiento de grandes colonias es el almacenamiento en frío del hospedador. En el caso de los esceliónidos se han documentado resultados diversos en relación a esta técnica.

El objetivo general de este trabajo es conocer la interacción entre *P. guildinii* y sus principales parasitoides oófagos. Los objetivos particulares son: 1) conocer el impacto del parasitoidismo sobre *P. guildinii* y las otras especies de hemípteros pentatómidos presentes en los cultivos de soja del noroeste de la provincia de Buenos Aires, 2) conocer el desempeño de los parasitoides sobre *P. guildinii* y otros pentatómidos, y el efecto de la edad de las hembras sobre el parasitoidismo, la emergencia y la proporción de sexos, 3) evaluar el multiparasitoidismo y su efecto sobre las especies que coexisten parasitando huevos de *P. guildinii*, 4) conocer el efecto de la conservación en frío de los huevos de *P. guildinii* sobre el parasitoidismo, como herramienta para la cría masiva de los parasitoides.

Se realizaron muestreos semanales desde 2006-2007 hasta 2010-2011, en soja, alfalfa y trébol rojo. Se colectaron todas las posturas de pentatómidos encontradas y se estimó la importancia relativa de *P. guildinii* como hospedador. El impacto del parasitoidismo, en su conjunto y por especie, se analizó mediante: 1) la eficiencia en la detección de posturas, 2) la eficiencia en el parasitoidismo, y 3) el impacto de los parasitoides. Estos indicadores fueron comparados, en las distintas temporadas y para cada cultivo. También se evaluó el efecto de ambos factores sobre la proporción de huevos parasitados/postura. Se relacionó la proporción de parasitoidismo/postura de *P. guildinii* y el tamaño de la misma.

Para evaluar el desempeño de *T. podisi*, *T. urichi* y *T. basalis* sobre huevos de los pentatómidos más abundantes, *P. guildinii* y *N. viridula*, posturas de 24h de desarrollo fueron ofrecidas a hembras de cada parasitoide con 24 a 48h como adulto, copuladas y sin

experiencia de parasitoidismo previa, durante 72h. Además, posturas de *P. guildinii* de 24h fueron ofrecidas individualmente a hembras de *T. podisi* de distintas edades. Hembras copuladas fueron reservadas hasta la edad requerida para los experimentos. El mismo procedimiento fue realizado con hembras de *T. urichi* y de *T. basalis*. Las proporciones de parasitoidismo, de emergencia y de hembras en la progenie fueron comparadas entre cada combinación parasitoide-hospedador, así como entre edades de las hembras.

Para evaluar el efecto del multiparasitoidismo, una postura de *P. guildinii* fue expuesta a una hembra de *T. podisi* de 24h, copulada y sin experiencia de oviposición previa hasta que parasitara aproximadamente la mitad de la postura, y una hora después se introdujo una hembra de *T. urichi*, dejándola hasta que parasitara un número similar de huevos. El mismo procedimiento fue realizado utilizando primero *T. urichi* y luego *T. podisi*. Se evaluó la selección realizada por *T. podisi* y *T. urichi* entre huevos no parasitados y huevos previamente parasitados por la otra especie, mediante el índice de forrajeo w_i . Además se comparó la emergencia de cada especie a partir de los huevos multiparasitados. También se comparó con la emergencia de cada especie cuando parasita huevos sin parasitar por la otra. Para evaluar si la emergencia depende del lapso entre oviposiciones, se subdividió dicho tiempo en 4 intervalos.

El efecto de la conservación de posturas de *P. guildinii* en frío sobre el desempeño de *T. podisi*, se estimó ofreciendo a las hembras huevos conservados a -18°C por un lapso de tres meses. La proporción de parasitoidismo fue comparada con los resultados obtenidos cuando las hembras parasitaron huevos de 24h.

En los cultivos estudiados se registraron posturas de *P. guildinii*, *N. viridula*, *E. mediotabunda* y *D. furcatus*, siendo la primera la especie más abundante. *T. podisi* fue el parasitoide de huevos de *P. guildinii* predominante, seguida por *T. urichi* y por *T. basalis*. *T. urichi* estuvo presente principalmente en alfalfa y solo en la temporada 2010-2011 en la cual la abundancia de *P. guildinii* fue mayor. La sequía durante las temporadas 2007-2008 y 2008-2009 podría haber sido la causa del bajo parasitoidismo registrado en ellas. No emergieron parasitoides a partir de las posturas colectadas en trébol rojo, y el parasitoidismo global fue semejante en soja y en alfalfa en todas las temporadas.

El parasitoidismo y la emergencia de adultos a partir de las combinaciones *T. podisi*-*P. guildinii*, *T. urichi*-*P. guildinii* y *T. basalis*-*N. viridula* fueron altos, y la

proporción de sexos en la progenie estuvo altamente sesgada hacia las hembras. Avispas jóvenes de *T. basalis* no parasitaron posturas de *P. guildinii*, y si bien las de mayor edad y cargadas de huevos aceptaron a este hospedador, el parasitoidismo fue muy bajo. Por otra parte, se registró un bajo parasitoidismo de *T. podisi* y *T. urichi* sobre posturas de *N. viridula*, y las avispas formadas no lograron emerger. Estas especies podrían ejercer un impacto negativo sobre la población de *N. viridula* provocando la mortalidad de sus huevos, pero su respuesta numérica a partir de este hospedador sería nula o muy baja.

La proporción de parasitoidismo y de emergencia de la progenie de *T. podisi* y de *T. urichi* sobre posturas de *P. guildinii* no fue afectada por la edad del parasitoide, sin embargo la proporción de hembras en la progenie de las hembras más viejas fue menor.

Telenomus podisi y *T. urichi* en condiciones óptimas y en ausencia de hospedadores no parasitados, no evitaron el multiparasitoidismo. Esto podría deberse a que no distinguen las marcas dejadas por avispas de la otra especie, o a que en las condiciones mencionadas el multiparasitoidismo no represente una desventaja. A partir de los huevos multiparasitados, la emergencia de *T. urichi* fue significativamente mayor, independientemente del orden en que parasitó y del lapso entre oviposiciones.

Si bien *T. podisi* y *T. urichi* tienen un buen desempeño sobre *P. guildinii*, en el campo el parasitoide dominante fue *T. podisi*, aunque los resultados de laboratorio indican que *T. urichi* posee mayor habilidad competitiva. Una baja eficiencia en la detección de posturas o la preferencia por otros hospedadores, podrían conducir a una baja tasa de encuentros entre *T. urichi* y *P. guildinii*. *T. podisi* en cambio, aunque posee una menor habilidad competitiva, tendría mayor capacidad para detectar posturas de esta “chinche”. Además, los resultados de campo sugieren que con *P. guildinii*, *E. mediotabunda* y *D. furcatus* como recursos en el cultivo, *T. podisi* parasitaría mayormente a *P. guildinii* mientras que *T. urichi* utilizaría a los otros hospedadores, que si bien fueron poco frecuentes en soja podrían haber estado presentes en la vegetación natural aledaña.

Por último, la proporción de parasitoidismo de *T. podisi* a partir de huevos de *P. guildinii* conservados a -18°C durante 3 meses fue menor (40%) que la registrada a partir de huevos de 24h (83,26%), sin embargo resultaría útil ante las dificultades que presenta la cría de estas especies.

Este estudio aporta información acerca del impacto del parasitoidismo a campo sobre huevos de *P. guildinii* y el desempeño de sus principales parasitoides, *T. podisi* y *T. urichi*, relevante para el manejo de esta plaga del cultivo de soja.

ABSTRACT

The soybean crop has undergone a major expansion in several countries over the past 10 years. Phytophagous hemipterans of the family Pentatomidae, known as bugs, cause significant damage on seeds due to their feeding habits. In Argentina, the most important species are *Piezodorus guildinii*, *Nezara viridula*, *Edessa meditabunda* and *Dichelops furcatus*. Both on soybean fields as on alfalfa fields, *P. guildinii* is the most abundant at present, and the most damaging to seed quality and viability.

The parasitoid wasps of the family Scelionidae are the main natural enemies of these bugs, and have been used as biological control agents in several countries. These wasps are endoparasitoids, oophagous, solitary and idiobiontes, and their preimaginal states develop inside the host's egg, emerging free-living adults that feed on nectar. Females are arrhenotokous and produce haploid males or diploid females, and the sex ratio of the offspring is biased towards females. *Telenomus podisi*, *Trissolcus basalis* and *Trissolcus urichi* attack *P. guildinii* and *N. viridula* eggs. Both bugs coexist on soybean crops in the study area, and evidence suggests that *P. guildinii* is the main host for *T. podisi* and *T. urichi*, and *N. viridula* is the one for *T. basalis*.

Parasitism impact depends on parasitoid's discovery efficiency, as well as on its parasitism efficiency. The size of a particular egg mass can influence the latter, since if the response of the parasitoid is directly densodependent, then the impact of parasitism will increase with increasing egg mass size.

Parasitoids performance is influenced by the quality of the host supply, as well as by particular states of the parasitoid's life history, such as the age of the parasitizing female. In turn, plants characteristics can influence the performance of parasitoids in the context of tri-trophic interactions. The searching and selection ability of females, as well as their reproductive success and survival will determine the parasitoid's host range. Another factor influencing the preimaginal survival and progeny's sex ratio is multiparasitism, which involves interspecific competition among adult females or their offspring. The ovipositions sequence of the different species, and the time elapsed between them could determine the outcome of the interaction. The multiparasitism may be advantageous if unparasitized hosts are scarce and the parasitoid egg load is high.

From an applied point of view, the successful use of parasitoids as augmentative biological control agents depends on the quantity and quality of the released organisms, which requires an adequate mass rearing. A technique for the maintenance of large colonies is the cold storage of the host. Diverse results have been documented regarding this technique for the case of scelionids' mass rearing.

The general objective of this Thesis was to study the interaction between *P. guildinii* and their major egg parasitoids. The specific objectives are: 1) to understand parasitism impact on *P. guildinii* and other pentatomid species present on soybean crops of northwestern Buenos Aires province, 2) to determine the performance of parasitoids on *P. guildinii* and other pentatomids, and the effect of age of the females wasp on parasitism, emergence and sex ratio, 3) to evaluate multiparasitism and its effect on coexisting egg parasitoid species of *P. guildinii*, 4) to determine the effect of *P. guildinii* eggs' cold storage on parasitism, as a tool for mass rearing of parasitoids.

Weekly samples were performed from 2006-2007 to 2010-2011 seasons on soybeans, alfalfa and red clover. All the pentatomid egg masses found were collected, and the relative importance of *P. guildinii* as host was estimated. Global and by species parasitism impact were analyzed by means of: 1) discovery efficiency, 2) parasitism efficiency, and 3) parasitoids impact. These indexes were compared in the different seasons and for each crop. The effect of both factors on the proportion of parasitized eggs/egg masse was also evaluated. The relation between the proportion of parasitized *P. guildinii* eggs/egg mass was analyzed as a function of its size.

To evaluate the performance of *T. podisi*, *T. urichi* and *T. basalis* on eggs of the most abundant pentatomids, *P. guildinii* and *N. viridula*, fresh egg masses were offered individually to young mated and inexperienced females of each parasitoid species during 72h. In addition, fresh *P. guildinii* egg masses were offered individually to females of *T. podisi* of different ages. Mated females were reserved until they reached the appropriate age for the treatment. The same procedure was performed with females of *T. urichi* and *T. basalis*. The proportions of parasitism, emergence and females in the progeny were compared between each parasitoid-host combination, as well as between the ages of the females.

To evaluate multiparasitism's effect, a *P. guildinii* egg mass was exposed to a young, mated and inexperienced *T. podisi* female, until about half of the eggs were parasitized, and an hour later a *T. urichi* female was introduced leaving it until a similar number of eggs were parasitized. The same procedure was performed exposing first *T. urichi* and then *T. podisi*. I evaluated the selection made by *T. podisi* and *T. urichi* between non parasitized eggs and eggs previously parasitized by the other species, using the foraging ratio w_i . The emergence of each species from multiparasitized eggs was compared. I also compared this emergence with emergence of each species when it parasitizes unparasitized eggs. To assess whether the emergence depends on the time between ovipositions, this period was subdivided into 4 time intervals.

The effect of cold storage of *P. guildinii* eggs on the performance of *T. podisi* was estimated exposing eggs preserved at -18°C for three months. The percentage of parasitism was compared with results obtained when the parasitoid parasitized fresh eggs.

In the field study egg masses of *P. guildinii*, *N. viridula*, *E. mediatubunda* and *D. furcatus* were recorded, being the first one the most abundant species. *T. podisi* was the predominant egg parasitoid of *P. guildinii*, followed by *T. urichi* and *T. basalis*. *T. urichi* was present mainly in alfalfa and only during the 2010-2011 season, in which the abundance of *P. guildinii* was higher. Drought during 2007-2008 and 2008-2009 seasons could have been the cause of low parasitism reported herein. No parasitoids emerged from the egg masses collected from red clover, and the parasitism rate was similar in soybean and alfalfa in all seasons.

Parasitism and adult emergence from *T. podisi*-*P. guildinii*, *T. urichi*-*P. guildinii* and *T. basalis*-*N. viridula* combinations were high, and the sex ratio of the progeny was highly skewed toward females. Young *T. basalis* wasps didn't parasitize *P. guildinii* eggs, and even though the older ones with an important egg load, accepted this host, anyway parasitism was very low. On the other hand, a low parasitism of *T. podisi* and *T. urichi* was registered on *N. viridula* eggs, and completely formed wasps failed to emerge. These species could have a negative impact on *N. viridula* population causing the mortality of their eggs, but the numerical response of these parasitoids from this host would be zero or very low.

The proportion of parasitism and progeny emergence of *T. podisi* and *T. urichi* on *P. guildinii* eggs was not affected by the age of the parasitoid, however, the proportion of females in the progeny of older females was lower.

Telenomus podisi and *T. urichi* at optimum conditions and in the absence of unparasitized hosts, did not avoid multiparasitism. This could have happened because they do not distinguish marks left by wasps of the other species, or because multiparasitism does not represent a disadvantage at the mentioned conditions. The emergence of *T. urichi* progeny from multiparasitized eggs was significantly higher than the emergence of *T. podisi*, independently of the order in which she parasitized and of the interval between the two ovipositions.

Even though both *T. podisi* and *T. urichi* performed well on *P. guildinii*, in the field *T. podisi* was the dominant parasitoid while laboratory results indicate that *T. urichi* has a superior competitive ability. A low discovery efficiency of egg masses or a preference for other hosts, could lead to a low rate of encounters between *T. urichi* and *P. guildinii*. *T. podisi* however, even though has a lower competitive ability, it would have greater ability to detect the egg masses of this bug. Furthermore, the results suggest that with *P. guildinii*, *E. meditabunda* and *D. furcatus* present as resources in the field, *T. podisi* would mostly parasitize *P. guildinii* egg masses while *T. urichi* would profit the other hosts, which were rare in surveyed soybean fields but may have been present in the surrounding natural vegetation.

Finally, the proportion of parasitism of *T. podisi* from *P. guildinii* eggs stored at -18° C for 3 months was lower (40%) than that recorded from fresh eggs (83.26%), however these technique would be useful to the difficulties faced during the rearing of these species.

This study provides relevant information about the impact of field parasitism on *P. guildinii* eggs and about the performance of its main parasitoids, *T. podisi* and *T. urichi*, useful to the management of this pest of soybean crops.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Marco teórico, hipótesis y predicciones

Los parasitoides son insectos cuyas larvas se desarrollan a expensas de otros artrópodos, matando al hospedador al alimentarse de él. Son organismos adaptados a utilizar ambientes pequeños y discontinuos y representan la especialización extrema en la explotación de un recurso, exhibiendo una gran diversidad de formas de vida. El hábitat donde residen los parasitoides son hospedadores, es decir seres vivos capaces de montar un sistema defensivo y reproducirse. Además la población de hospedadores constituye un conjunto de hábitats replicados en el espacio y en el tiempo (Godfray, 1994).

Con respecto a los parasitoides de fitófagos, para que el parasitoidismo se lleve a cabo deben realizar las siguientes etapas: 1) contactar el hábitat apropiado, es decir aquel en el cual se encuentran los hospedadores, 2) contactar el sustrato adecuado (aquellas plantas que probablemente estén relacionadas con el hospedador), 3) moverse en el sustrato hasta encontrar el hospedador, 4) estimar si el hospedador es el adecuado, y 5) parasitarlo (Vinson, 1976).

Estas acciones son el resultado de interacciones a distinto nivel trófico. Las dos primeras están determinadas por la interacción entre el parasitoide y su hospedador, así como entre el parasitoide y la planta sobre la cual aquel se alimenta, mientras que estimar si el hospedador es adecuado y parasitarlo dependen de las interacciones parasitoide-hospedador y parasitoide-parasitoide, esta última en el caso en que dos o varias especies compartan el mismo hospedador.

Varias especies de parasitoides oófagos, tales como *Trissolcus basalis* (Wollaston) (Hymenoptera: Scelionidae), han sido utilizados en programas de control biológico de *Nezara viridula* (L.) y *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae) (Colazza & Bin, 1995; Corrêa-Ferreira & Moscardi, 1995). A fin de estimar el impacto del parasitoidismo en el campo, Bin & Vinson (1990) definieron tres indicadores: 1) la eficiencia en la detección de posturas, cociente entre el número de posturas parasitadas y el número total de posturas colectadas en el campo; 2) la eficiencia en el parasitoidismo,

cociente entre el número de huevos parasitados y el número de huevos de las posturas colectadas que estaban atacadas por el parasitoide, y 3) el impacto de los parasitoides, cociente entre el número total de huevos parasitados y el número total de huevos colectados en el campo. Para evaluar e interpretar adecuadamente estos indicadores es necesario conocer el desempeño específico sobre el hospedador, o sea el éxito reproductivo y la supervivencia. Ambas características de los parasitoides dependen de la decisión que hace la avispa madre respecto de la selección del hospedador (Godfray, 1994; Vinson, 1998), en función de factores exógenos y endógenos. Entre los primeros se encuentran la cantidad y calidad de oferta de hospedadores (Hochberg & Ives, 2000; McNamara & Houston, 1992), representadas fundamentalmente por la densidad, la disposición espacial a escala de cultivo y de planta, y el estado de desarrollo o de embriogénesis del hospedador, y si se trata de un huevo sano (no parasitado) o previamente parasitado. La calidad de los hospedadores, en términos específicos nutricionales, afecta la elección de las hembras y es determinante del desempeño potencial de los parasitoides.

En relación con la densidad y la disposición espacial del hospedador a diferentes escalas, las mismas pueden determinar una respuesta de agregación de los parasitoides. Los parasitoides que responden de manera densodependiente aumentan su impacto de parasitoidismo al concentrar su búsqueda en áreas de mayor densidad (Godfray et al., 2000; Hassell, 2000; Hassell & May, 1974). Sin embargo, en relación a los patrones de mortalidad causados por parasitoides, se observa que estos son generalmente densoindependientes (Hassell & May, 1974; Lessells, 1985; Stiling, 1987; Walde & Murdoch, 1988). Esto podría deberse a falta de respuesta de agregación por parte de los parasitoides (Loch & Zalucki, 1998), interferencia entre ellos (Sutherland, 1983; Visser et al., 1999), multiparasitoidismo (Lessells, 1985), hiperparasitoidismo (Loch & Zalucki, 1998) y otros enemigos naturales (Strong, 1989), baja capacidad de búsqueda de los parasitoides (Loch & Zalucki, 1998). En particular para el caso de los esceliónidos varios autores han registrado interferencia entre las avispas (Corrêa-Ferreira, 1993; Field & Calbert, 1999; Sujii et al., 2002), así como saturación en el proceso de parasitoidismo (Colazza & Bin, 1995; Laumanm et al., 2008).

Por su parte, los factores endógenos que influyen en la oviposición de las hembras de los parasitoides son principalmente los estados particulares de su historia de vida, tales

como la edad, el estado nutricional y la experiencia previa de oviposición (Lucchetta et al., 2007; McNamara & Houston, 1990; McNamara & Houston, 1992).

Telenomus podisi (Ashmead), *Trissolcus urichi* (Crawford) y *T. basalis* (Hymenoptera: Scelionidae) son parasitoides polífagos de huevos de “chinchas”, y las tres especies han sido citadas como parasitoides de *P. guildinii* y de *N. viridula* (Field et al., 1998; Johnson, 1985a; Johnson, 1985b; Johnson, 1987; Masner, 1976; Masner, 1980; Silva dos Santos, 2008). En los cultivos de soja de la provincia de Buenos Aires y otras regiones del país, ambas “chinchas” son las más abundantes (Liljesthröm & Coviella, 1999), constituyendo recursos disponibles para las tres especies de parasitoides mencionadas. Sujii et al. (2002) mencionan que el éxito reproductivo de *T. podisi* y de *T. urichi* sobre *P. guildinii* fue significativamente mayor que sobre huevos de *N. viridula*. Por otra parte, numerosos antecedentes indican a *N. viridula* como el principal hospedador de *T. basalis* (Clarke, 1990b; Corrêa-Ferreira & Zamataro, 1989b; Cumber, 1951; Ehler, 2002; Jones, 1988; Liljesthröm & Coviella, 1999; Orr, 1988).

La ocurrencia simultánea de varias especies de parasitoides en una misma postura de pentatómido en el campo, si bien es poco frecuente, ha sido registrada en varias ocasiones (Buschman & Whitcomb, 1980; Corrêa-Ferreira & Moscardi, 1995; Cusumano et al., 2011; Ehler, 2002; Hokyo & Kiritani, 1963; Molinari et al., 2007; Peri et al., 2006). Por ejemplo, se observó emergencia de *Trissolcus sp* y *Ooencyrtus sp* a partir de una misma postura de *N. viridula* (Cusumano et al., 2011). Sin embargo, nunca se ha registrado emergencia de adultos de distintas especies de parasitoides a partir de un único huevo del hospedador, ya que son solitarios. El multiparasitoidismo en este caso conduce a competencia interespecífica entre estados inmaduros, es decir, entre las larvas que se desarrollan dentro de un mismo hospedador (Zwölfer, 1971). La competencia interespecífica puede darse mediante ataque físico o mediante supresión fisiológica por medio de toxinas, anoxia o falta de alimento (Godfray, 1994). Debido a que esta interacción ocurre dentro del hospedador, la existencia de multiparasitoidismo no puede determinarse identificando solamente las avispas que emergen de una postura, sino que es preciso conocer los eventos de oviposición que sucedieron.

La competencia se considera un fenómeno más importante en las comunidades de parasitoides que en las de otros niveles tróficos, ya que los hospedadores individuales

constituyen una fuente de recursos pequeña, que es suficiente solo para un individuo. La competencia interespecífica entre parasitoides influye en la coexistencia de las especies y en la estructura de la comunidad (Godfray, 1994).

Una desventaja del multiparasitoidismo, en los parasitoides arrenotóquicos, podría ser el sesgo hacia los machos, como ocurre en el superparasitoidismo (un hospedador parasitado por varios individuos de la misma especie) (Field et al., 1997). El sesgo hacia los machos tiene consecuencias en la dinámica poblacional, ya que la mayor competencia entre ellos interfiere en la fecundación de las hembras, lo cual genera una mayor producción de machos en la siguiente generación (Hassell et al., 1983).

Por las implicancias negativas que pueden tener el multiparasitoidismo y el superparasitoidismo al involucrar competencia, algunas especies han desarrollado mecanismos para marcar los huevos atacados y para reconocer las marcas de otras hembras. Esta capacidad les permite a los parasitoides reconocer hospedadores parasitados y evitarlos. Las marcas servirían a nivel específico (Bakker et al., 1985), y en los esceliónidos el marcado se realiza por medio del raspado del ovipositor sobre la superficie del huevo del hospedador.

En el caso de la competencia con ataque físico, se ha observado que el orden en el cual ocurre la oviposición y el intervalo de tiempo transcurrido entre oviposiciones es importante en el resultado de la competencia larval (Chow & Mackauer, 1984; Mackauer, 1990; Tillman & Powell, 1992). Las larvas del primer estadio de los parasitoides de la familia Scelionidae son teleaformes, con largas mandíbulas que muchos autores sugieren que son usadas en la eliminación de competidores (Volkoff & Colazza, 1992). Según estos antecedentes la especie que parasite primero tendrá más probabilidad de sobrevivir ya que su larva tendrá cierto grado de desarrollo al momento de producirse el multiparasitoidismo. Si el tiempo transcurrido entre una oviposición y la otra es muy breve, sobrevivirá la especie que logre eliminar antes a su competidora dentro del hospedador.

Desde el punto de vista aplicado, el conocimiento de las interacciones que ocurren entre los parasitoides y sus hospedadores resulta muy importante para el “control biológico”. El “control biológico aumentativo” implica la cría masiva y liberación de un gran número de enemigos naturales. La cantidad y la calidad de los organismos liberados dependen del mantenimiento de grandes colonias de estos insectos. En este sentido, muchas

técnicas han sido desarrolladas con el fin de optimizar las crías masivas de los enemigos naturales. En particular, en referencia al almacenamiento de hospedadores de parasitoides esceliónidos, se han documentado resultados diversos a partir de la conservación en frío, existiendo antecedentes de consecuencias negativas o neutras en el desempeño de los parasitoides.

Las hipótesis y predicciones de este trabajo son:

1) *Piezodorus guildinii* y *N. viridula* se encuentran dentro del rango de hospedadores para *T. podisi*, *T. urichi* y *T. basalis*, pero en el campo estos parasitoides atacan preferentemente un hospedador. Se espera encontrar que las posturas de *P. guildinii* sean parasitadas preferentemente por *T. podisi* y *T. urichi*, y las de *N. viridula* por *T. basalis*.

2) El tamaño de la postura (número de huevos por postura) influye en la proporción de individuos parasitados. Para el caso de los parasitoides esceliónidos, se espera encontrar una respuesta densoindependiente a nivel de la postura.

3) La supervivencia y reproducción de los parasitoides depende de la cantidad y calidad del recurso, así como del estado fisiológico de la hembra en el momento de la oviposición. Se espera encontrar que: a) el desempeño de cada especie de parasitoide de la familia Scelionidae, en condiciones óptimas para las hembras, sea diferente sobre las distintas especies de “chinchas” fitófagas que atacan el cultivo de soja, b) que el porcentaje de parasitoidismo y de emergencia disminuyan con la edad de la hembra. Otra predicción que se desprende de esta hipótesis, pero está más relacionada con fines prácticos por su importancia en la cría masiva para el control biológico aumentativo, es que el parasitoidismo será afectado por la conservación de huevos del hospedador a bajas temperaturas. Existen antecedentes de que este efecto puede ser negativo o neutro.

4) Los parasitoides de distintas especies que comparten el mismo recurso evitan el multiparasitoidismo, ya que éste conduce a competencia e implica que ambas disminuyan su desempeño. Se espera encontrar que: a) *T. podisi* y *T. urichi* parasiten en mayor proporción a los huevos sanos (no parasitados), evitando parasitar huevos previamente parasitados por la otra especie, b) sobreviva la especie que parasitó primero, c) a mayor tiempo transcurrido entre las oviposiciones de ambas especies, menor será la proporción de

emergencia de la progenie del parasitoide que multiparasita, y d) la progenie del parasitoide que multiparasita tenga una proporción de sexos sesgada hacia los machos.

Objetivos

El objetivo general de este trabajo es conocer la interacción entre *P. guildinii* y sus principales parasitoides oófagos presentes en el noreste de la provincia de Buenos Aires.

Los objetivos particulares son:

1) Conocer el impacto del parasitoidismo de los himenópteros esceliónidos sobre *P. guildinii* y las otras especies de hemípteros pentatómidos presentes en los cultivos de soja, alfalfa y trébol rojo del noroeste de la provincia de Buenos Aires, así como evaluar la influencia del tamaño de las posturas de *P. guildinii* (huevos por postura) sobre el parasitoidismo causado por cada especie de parasitoide (Capítulo 2).

2) Conocer el desempeño de los parasitoides sobre *P. guildinii* y otros pentatómidos, y conocer el efecto de la edad de las hembras sobre el parasitoidismo, la emergencia y la proporción de sexos (Capítulo 3).

3) Evaluar el multiparasitoidismo y su efecto sobre las especies que coexisten parasitando huevos de *P. guildinii* (Capítulo 4).

4) Conocer el efecto de la conservación en frío de los huevos de *P. guildinii* sobre el parasitoidismo, como aspecto importante para las crías masivas en programas de control biológico aumentativo (Capítulo 5).

CAPÍTULO 1

Descripción del sistema de estudio

CAPÍTULO 1

Descripción del sistema de estudio

El cultivo de soja

El cultivo de la soja, *Glycine max* (L.) Merr. (Fabales: Fabaceae), ha experimentado en varios países una gran expansión en pocos años, pasando de dedicarse 30.470 ha a este cultivo en la Argentina en la campaña 1969/70 a 18.343.272 ha en la campaña 2009/2010. Este desarrollo estuvo acompañado por un incremento significativo de los rendimientos, los cuales se triplicaron en ese período y la producción pasó de 26.800 ton (rendimiento=1.031,96 kg/ha) a 52.676.620 ton (rendimiento=2.905 kg/ha) (Sistema Integral de Información Agropecuaria, M.A.G.y.P., 2011).

Los principales países productores de soja durante la campaña 2009/2010 fueron (millones de toneladas): Estados Unidos (96,1); Brasil (61,6); Argentina (52,5); China (15,4); India (10,1); Paraguay (6,9); Canadá (3,6) y Bolivia (2,7). La producción mundial alcanzó los 246,7 millones de toneladas (FAO, 2011).

En nuestro país, la gran expansión del cultivo de soja ha reemplazado al trigo, *Triticum aestivum* L. (Poales: Poaceae), como cultivo dominante. Distintos estimadores indican que, asociado a este incremento de la dominancia de la soja, la diversidad de cultivos del campo argentino ha decrecido (Aizen et al., 2009) (Figura 1.1).

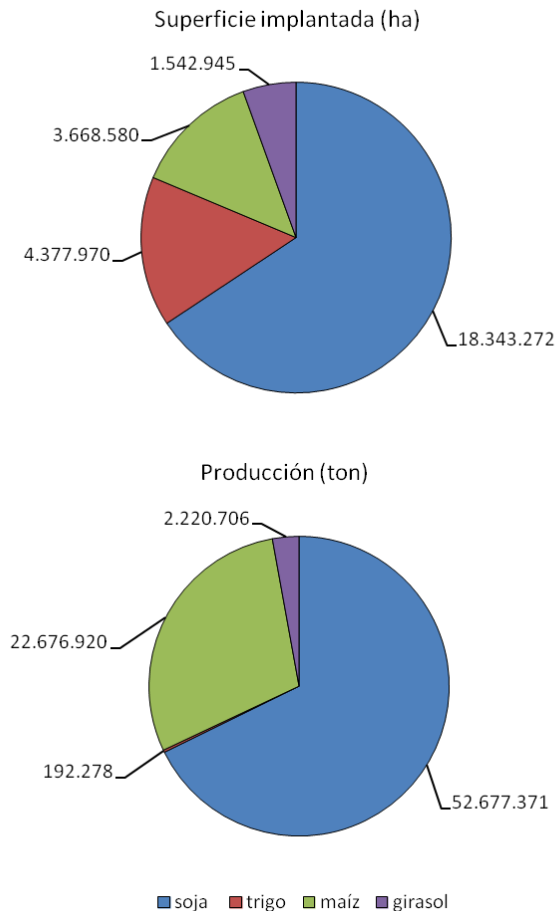


Figura 1.1. Superficie implantada y producción de los principales cultivos de la Argentina durante la campaña 2009/2010. Fuente: Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (Argentina), 2011.

Esta planta es originaria de China y el cultivo comenzó a ser importante en occidente, en particular en los Estados Unidos, la Argentina, Brasil, Bolivia y Paraguay en la década del '70, llegando a tener un gran auge en los años '90, substituyendo en muchos casos territorios antes dedicados a los cereales (trigo, maíz, etc.) o a la ganadería, e incluso avanzando sobre áreas forestales.

La soja es una especie herbácea, cuyos frutos son legumbres dehiscentes, péndulas e hirsutas, de hasta 7cm de longitud y con 1 a 4 semillas en su interior, que maduran de manera simultánea con la caída de las hojas (Dimitri, 1978). Fehr et al. (1971) desarrollaron una escala para describir los estados fenológicos de este cultivo, distinguiendo entre etapas vegetativas (V) y etapas reproductivas (R). El primer estado descripto es VE, que indica la

emergencia del hipocótilo. Luego comienza la etapa cotiledonar (VC), seguida por la aparición de los subsiguientes brotes foliares que se designan como Vn, donde “n” indica el número de nudos. Posteriormente se inicia la etapa reproductiva, que incluye la floración (inicio de la floración = R1) y fructificación. Esta última etapa abarca la formación (R3) y desarrollo (R4) de vainas, la formación (R5) y desarrollo (R6) de semillas, el inicio de la maduración de las vainas (R7), y por último la maduración completa de las mismas (R8).

El cultivo se siembra durante la primavera y se cosecha a fines del verano o principios del otoño. En el hemisferio sur la fecha de siembra varía entre los meses de octubre y diciembre, y la cosecha se desarrolla entre los meses de marzo y mayo. La denominada “soja de primera” se siembra habitualmente a fines de octubre y se cosecha a principios de abril, mientras que la soja sembrada en el mes de diciembre en el hemisferio sur se denomina “soja de segunda”, debido al retraso frente a la fecha óptima. Los cultivares “de segunda” generalmente son precedidos por un cultivo de trigo.

El principal destino del cultivo es la producción de semillas, harina y aceite. Otro producto obtenido a partir de la soja es el denominado “biodiesel” o “biocombustible”. Según la CADER (2011), la Argentina es el principal exportador y el quinto productor mundial de biodiesel (después de Alemania, Francia, Estados Unidos y Brasil), con una producción de 1,9 millones de toneladas en 2010 en todo el país.

Respecto del manejo de este cultivo, la mayor parte de los cultivares utilizados en la Argentina están genéticamente modificados, siendo resistentes al glifosato, un herbicida no selectivo. Los mismos expresan un gen de resistencia, proveniente de una bacteria del suelo (*Agrobacterium tumefaciens* (Smith & Townsend) Conn (Rhizobiales: Rhizobiaceae). El glifosato actúa en todas las especies vegetales inhibiendo la actividad de las enzimas que sintetizan los aminoácidos aromáticos necesarios en la fotosíntesis, y por ello las plantas mueren o frenan considerablemente su crecimiento. La soja transgénica puede resistir al glifosato porque posee una enzima proveniente de las bacterias, que también sintetiza aminoácidos aromáticos, por lo que la planta no se ve perjudicada por la aplicación de este herbicida.

Las principales enfermedades que afectan al cultivo de la soja son un conjunto de enfermedades fúngicas, conocidas como “de fin de ciclo” (EFC), que afectan a las hojas y tallos generando defoliación o disminuyendo la calidad de los granos. Entre ellas, las más

importantes son: la mancha de ojo de rana (MOR) causada por el hongo *Cercospora sojina* H. (Capnodiales: Mycosphaerellaceae), la mancha marrón causada por *Septoria glycines* (Hemmi) (Capnodiales: Mycosphaerellaceae), la antracnosis causada por *Colletotrichum truncatum* (Schwein.) Andrus & Moore (Glomerellales: Glomerellaceae), el tizón del tallo y de la vaina causado por *Phomopsis sojae* (Lehm.) (Diaporthales: Valsaceae) o *Diaporthe phaseolorum var sojae* (Lehman) Wehm. (Diaporthales: Diaporthaceae) y la mancha púrpura de la semilla causada por *Cercospora kikuchii* (Matsumoto & Tomoyasu) M. W. Gardner (Capnodiales: Mycosphaerellaceae). Una de las enfermedades más importantes, registrada en los últimos años es la roya de la soja, producida por *Phakopsora pachyrhizi* Syd. o *Phakopsora meibomiae* (Arth.) Arth. (Uredinales: Phakopsoraceae) (Ploper & Devani, 2002).

Varias especies de insectos fitófagos afectan al cultivo de soja en sus distintos estados fenológicos. En la pampa ondulada, cuando la soja se encuentra en estados tempranos (V1 a V3), las orugas defoliadoras son los fitófagos más relevantes, que se alimentan de las hojas reduciendo la fotosíntesis. Las especies más importantes son la oruga medidora *Rachiplusia nu* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae), la gata peluda norteamericana *Spilosoma virginica* Fabricius (Lepidoptera:Arctidae), la oruga militar tardía *Spodoptera frugiperda* Walker (Lepidoptera: Noctuidae), la oruga bolillera *Helicoverpa gelotopoeon* (Dyar) (Lepidoptera: Noctuidae), la oruga de las leguminosas *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera:Noctuidae) y el barrenador del brote *Crociosema (=Epinotia) aporema* (Walsingham) (Lepidoptera: Tortricidae). En condiciones de sequía importante, también se registra la presencia de arañuelas (Acari: Tetranychidae) y trips (Thysanoptera: Thripidae) (Aragón, 2002; Aragón, 2003; Luna & Sánchez, 1999).

Los hemípteros fitófagos de la familia Pentatomidae, comúnmente conocidos como “chinchas”, constituyen la mayor amenaza en toda la región productora de esta oleaginosa. A partir de R3 y hasta R6 la soja es susceptible al ataque de estos insectos, principalmente en el estado R4. Las “chinchas” colonizan el cultivo desde los bordes en la etapa de floración o poco antes, y luego comienzan a dispersarse hacia el centro del mismo, coincidiendo con la formación de vainas. A partir del estado fenológico R5 la población aumenta marcadamente hasta la madurez fisiológica (Gamundi & Sosa, 2007).

Estos insectos se alimentan principalmente de vainas causando un daño directo e irreversible sobre las semillas en desarrollo. Las “chinchas” presentan un aparato bucal sucto-picador, y tanto las ninfas (a excepción de las del primer estadio, las cuales no se alimentan) como los adultos obtienen su alimento mediante el picado del tejido vegetal y posterior succión de los contenidos celulares. Las semillas dañadas se deterioran con más facilidad durante el almacenamiento y son más propensas al ataque de enfermedades y plagas. Las principales causas de pérdidas de rendimiento y calidad del cultivo de soja son: la inyección de enzimas digestivas que disuelven las paredes celulares, la consecuente pérdida de contenido celular, el aborto o la deformación de los granos y la penetración de microorganismos patógenos que provocan podredumbre, como *Nematospora coryli* Peglion (Saccharomycetales: Saccharomycetaceae) que causa una enfermedad ampliamente difundida (Daugherty et al., 1964). Otros síntomas del daño causado por altas infestaciones de “chinchas” son la madurez demorada, la retención foliar y la producción de pequeños folíolos y vainas supernumerarias pegadas al tallo principal (Gamundi & Sosa, 2008).

En la Argentina, las especies de pentatómidos más frecuentes y con niveles de infestación que afectan anualmente el rendimiento del cultivo de soja son: la “chinche” de la alfalfa *Piezodorus guildinii* Westwood, la “chinche” verde *Nezara viridula* (L), el alquiche chico *Edessa meditabunda* (Fabricius) y la “chinche” de los cuernitos *Dichelops furcatus* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) (Gamundi & Sosa, 2008). Corrêa-Ferreira & de Azevedo (2002) compararon los daños producidos por varias especies y encontraron que *P. guildinii* fue la que más afectó la calidad y viabilidad de la semilla, seguida por *N. viridula*.

Desde el comienzo del cultivo de soja en la Argentina, y especialmente como consecuencia de los cambios ocurridos en el sistema productivo durante el período 1997-2007, la abundancia relativa de las especies de hemípteros se ha modificado en grado diferente según las distintas áreas geográficas (Gamundi & Sosa, 2008). En general, desde principios de los años '70 hasta 1995, la especie predominante fue *N. viridula* (Bimboni, 1977; Sosa & Parra, 1994; Vicentini & Jimenez, 1977), sin embargo actualmente en la provincia de Buenos Aires, *P. guildinii* es más importante (Massoni et al., 2008). Los cultivares de soja que responden a grupos de madurez cortos (III, IV y V) y que se

siembran entre septiembre y octubre, promuevan la oferta de recursos alimenticios (vainas) en épocas tempranas. Las temperaturas registradas en la región, especialmente las mínimas elevadas, contribuirían al desarrollo de un mayor número de generaciones de *P. guildinii* a través de la aceleración de los ciclos biológicos (Massoni & Frana, 2006a). Si bien estos factores ejercerían su efecto sobre todo el complejo de “chinchas” que atacan a la soja, no se conocen parasitoides de los últimos estadios ninfales ni del estado adulto de *P. guildinii* (Liljesthröm & Ávalos, 2009), los cuales representan importantes factores de mortalidad para las otras especies. La única referencia al respecto es la ocurrencia inusual de parasitoidismo de un adulto de *P. guildinii* por *Trichopoda pennipes* (Fabricius) (Diptera: Tachinidae) en Brasil (Panizzi & Slansky Jr, 1985c) y uno por *Euthera tentatrix* Loew (Diptera: Tachinidae) en Florida, Estados Unidos (Buschman & Whitcomb, 1980).

P. guildinii es de origen neotropical, se encuentra presente desde el sur de los Estados Unidos hasta la zona central de la Argentina (Serra & La Porta, 2001) y se alimenta principalmente de leguminosas (Fabales: Fabaceae), tanto cultivadas como espontáneas. Por su parte, *N. viridula* es una plaga de origen etíopico (Hokkanen, 1986; Jones, 1988) que actualmente presenta distribución cosmopolita, y afecta a numerosos cultivos, pertenecientes a varias familias.

Diversos estudios evaluaron los daños causados por distintos niveles de infestación de “chinchas” en los estados de desarrollo de la soja (Gamundi & Sosa, 2007). Esta información ha llevado a establecer niveles de densidad poblacional ante la cual deben iniciarse medidas de control (nivel de acción o umbral económico) para evitar que se alcance la densidad poblacional mínima que puede causar daño económico (nivel de daño económico). Los actuales umbrales económicos recomendados son de entre 0,5 y 0,8 “chinchas”/m para siembras a 52cm entre líneas (Gamundi et al., 2003; Iannone & Leiva, 1994). Gamundi & Sosa (2007) remarcan la importancia de convalidar los umbrales económicos en diferentes regiones, ya que se observa una tendencia a simplificar el manejo de las “chinchas” utilizando los mismos umbrales (por lo general el más bajo) para sojas sembradas desde el sur de Buenos Aires hasta el norte del país, a pesar de la amplia variación en lo referente al ambiente, el grupo de madurez, los espaciamientos entre

plantas, los rendimientos y la composición específica del complejo de hemípteros en cada región.

Históricamente en la Argentina, el control de “chinchés” se ha realizado con un espectro muy estrecho de insecticidas. En su mayoría se utilizó endosulfán (insecticida del grupo de los ciclodienos) o mezclas de éste con piretroides, y en menor medida metamidofós, clorpirifós y fenitrothion (insecticidas organofosforados), solos o combinados con piretroides (Gamundi et al., 2003). Según datos de la CASAFE (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes de la Argentina) (2009) los insecticidas más aplicados en el cultivo de soja son endosulfán, clorpirifós, cipermetrina, metamidofós y lambda-cialotrina, todos ellos caracterizados por su escasa selectividad. En campañas recientes se han detectado bajos niveles de control mediante los tratamientos químicos (Toledo et al., 2005). Una actitud frecuente ante esta dificultad es aumentar las dosis o realizar mezclas de tanque no evaluadas experimentalmente (Perotti et al., 2010). Estas prácticas afectan negativamente la acción de los enemigos naturales (Bayram et al., 2010; Benamú et al., 2010; Luckmann & de Gouvea, 2009) y pueden generar poblaciones resistentes a insecticidas, tal como fue demostrado en Brasil para *Euschistus heros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) frente a endosulfán y metamidofós (Sosa-Gómez & da Silva, 2010; Sosa-Gomez et al., 2001).

Las especies de “chinchés” presentes en los cultivos de soja de la región poseen un complejo diverso de enemigos naturales (Tabla 1.1). También se menciona como factor de mortalidad al canibalismo de adultos y ninfas grandes sobre ninfas pequeñas (Ribeiro & Castiglioni, 2008).

Tabla 1.1. Enemigos naturales de las principales “chinchas” plaga asociadas al cultivo de soja, observados en la zona sur de Brasil, Uruguay y Argentina.

Orden (Familia)	Especie	estadio afectado	referencia
Arachnida (Araneae)	varias especies	ninfas pequeñas y medianas	Aragón (2002) González et al. (2009)
Neuroptera (Crysopidae)	varias especies	huevos y ninfas chicas	Riberiro & Castiglioni (2008)
Hemiptera			
(Pentatomidae)	<i>Podisus</i> sp.	huevos, ninfas chicas y medianas	Aragón (2002) Riberiro & Castiglioni (2008)
	<i>Thyanta perditor</i>		
(Lygaeidae)	<i>Geocoris</i> sp.	huevos y ninfas pequeñas	Aragón (2002) Riberiro & Castiglioni (2008) Riberiro & Castiglioni (2008)
(Nabidae)	<i>Tropiconabis capsiformis</i>	huevos y ninfas pequeñas	
(Anthocoridae)	<i>Orius</i> sp.	huevos y ninfas pequeñas	Riberiro & Castiglioni (2008)
Orthoptera (Tettigonidae)	varias especies	huevos	Riberiro & Castiglioni (2008)
Coleoptera (Coccinellidae)	<i>Eriopis conexa</i>	ninfas chicas	Aragón (2002)
	<i>Harmonia axiridis</i>		Riberiro & Castiglioni (2008)
	<i>Hippodamia convergenes</i>		
Diptera (Tachinidae)	<i>Trichopoda giacomellii</i>	ninfas V y adultos de <i>N. viridula</i>	Aragón (2002)
Hymenoptera			
(Formicidae)	varias especies	huevos	Aragón (2002)
(Scelionidae)	<i>Trissolcus basalis</i>	huevos	Aragón (2002)
	<i>Telenomus podisi</i>		Riberiro & Castiglioni (2008)
	<i>Trissolcus urichi</i>		Silva dos Santos (2008)
	<i>Trissolcus brochymenae</i>		
(Eurytomidae)	<i>Neorileya</i> sp.	huevos	Silva dos Santos (2008)
(Encyrtidae)	<i>Ooencyrtus</i> sp.	huevos	Silva dos Santos (2008)
Mermithida (Mermitidae)	<i>Mermis</i> sp.	ninfas y adultos	Riberiro & Castiglioni (2008)
	<i>Hexamermis</i> sp.		
Hypocreales	<i>Beauveria</i> sp.	ninfas y adultos	Aragón (2002)
(Clavicipitaceae)			Riberiro & Castiglioni (2008)

Dentro de este complejo de enemigos naturales, los himenópteros parasitoides de la familia Scelionidae son importantes agentes de control biológico, utilizados mediante técnicas de liberación aumentativa para controlar a *N. viridula* en Australia (Clarke, 1990a), Hawaii (Davis, 1964), Brasil (Corrêa-Ferreira, 1993b) e incluso Argentina (Crouzel & Saini, 1983).

Piezodorus guildinii

En la Argentina, *P. guildinii* no sólo es importante en los cultivos de soja sino que es considerada sumamente perjudicial en alfalfa, *Medicago sativa* (L.) (Fabales: Fabaceae), destinada a la producción de semilla (Aragón et al., 1997; Fraga & Ochoa, 1972; Iannone & Leiva, 1994). Otras especies vegetales del rango de hospedadoras de esta “chinche” son: lenteja, *Lens culinaris* Med.; arveja, *Pisum sativa* (L.); poroto, *Phaseolus vulgaris* (L.); caupí, *Vigna sinensis* (L.); Indigofera sp.; trébol rojo, *Trifolium pratense* L. y *Crotalaria* sp. (Fabales: Fabaceae) (Panizzi, 1992; Panizzi & Slansky Jr, 1985b). También fue encontrada sobre cayote, *Sechium edule* (Jacq.) Swartz. (Cucurbitales: Cucurbitaceae); hinojo, *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiales: Apiaceae) y frutilla, *Fragaria x ananasa* Duch. (Rosales: Rosaceae), si bien algunas de estas plantas proveen solo refugio, y no serían realmente hospedadoras (Lopes et al., 1974).

Los adultos post-invernantes desarrollan una primera generación en la vegetación espontánea hacia principios de octubre, desde donde colonizan la soja a comienzos de diciembre y desarrollan 3 generaciones relativamente discretas (Aragón et al., 1997; Iannone & Leiva, 1994; Massoni & Frana, 2005; Massoni & Frana, 2006a).

Generalmente las posturas son depositadas sobre las vainas, en el haz de las hojas o sobre los pecíolos y tallos. Los huevos son de color negro y se ubican formando una doble hilera. Luego de 5 días emerge el primero de 5 estadios ninfales (Figura 1.2), los cuales tienen una duración promedio de 3, 5, 5, 7 y 7 días (respectivamente) (Serra & La Porta, 2001).



Figura 1.2. Postura y ninfas I (izquierda), ninfa V (centro) y adulto (derecha) de *P. guildinii*.

Serra & La Porta (2001) estudiaron varios aspectos de la historia de vida de *P. guildinii* en condiciones de laboratorio ($24,9 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$; $53,6 \pm 7,9\%$ HR; 16h fotofase). Encontraron que la longevidad promedio del adulto es de 60 y 78,5 días para el macho y la hembra, respectivamente, el período de pre-oviposición dura entre 13 y 34 días, y cada hembra deposita a lo largo de su vida entre 3 y 5 posturas en promedio, de alrededor de 14 huevos cada una.

Esceliónidos parasitoides de pentatómidos

La familia Scelionidae está compuesta por avispas de color negro, que miden entre 1 y 2,5 mm de longitud, y se distinguen por poseer en el ala anterior una vena submarginal que usualmente alcanza el margen anterior del ala y se continúa como vena marginal, luego diverge abruptamente y forma la vena estigmal; la vena postmarginal generalmente está presente. La antena se inserta cerca del margen superior del clípeo (Masner, 1995). La familia se divide en tres subfamilias: Scelioninae, Teleasinae y Telenominae (Masner, 1976; 1980) con más de 160 géneros y alrededor de 3.000 especies. En la región Neotropical se han descripto 57 géneros y 342 especies, y en la Argentina está representada por 49 especies, pertenecientes a 7 géneros (Loiácono et al., 2002).

Atacan huevos de “chinchas” (Hemiptera), mariposas y polillas (Lepidoptera), moscas (Diptera), grillos (Orthoptera), escarabajos (Coleoptera) y algunas arañas (Araneae) (Arias-Penna, 2002).

Son endoparasitoides solitarios, es decir que un solo individuo se desarrolla a partir de un individuo del hospedador. Además son idiobiontes, ya que detienen el crecimiento del hospedador en el momento de la oviposición, a diferencia de los koinobiontes, que permiten que el huésped continúe su desarrollo después de la oviposición del parasitoide. Los endoparasitoides idiobiontes producen comúnmente la muerte rápida del hospedador (Askew & Shaw, 1986). Los estados de huevo, larva y pupa se desarrollan dentro del huevo del hospedador, emergiendo luego la avispa adulta. El número de estadios larvales varía entre 2 y 5 dependiendo de las especies (Volkoff & Colazza, 1992). Los adultos son de vida libre y se alimentan de néctar (Corrêa-Ferreira, 1993b). Al momento de emerger, la avispa corta con sus mandíbulas el opérculo del huevo del hospedador dentro del cual se encuentra. Esto permite diferenciar un huevo de “chinche” del cual emergió la ninfa (opérculo abierto), de un huevo del cual emergió el parasitoide (opérculo con orificio, cortado con las mandíbulas de la avispa) (Figura 1.3).

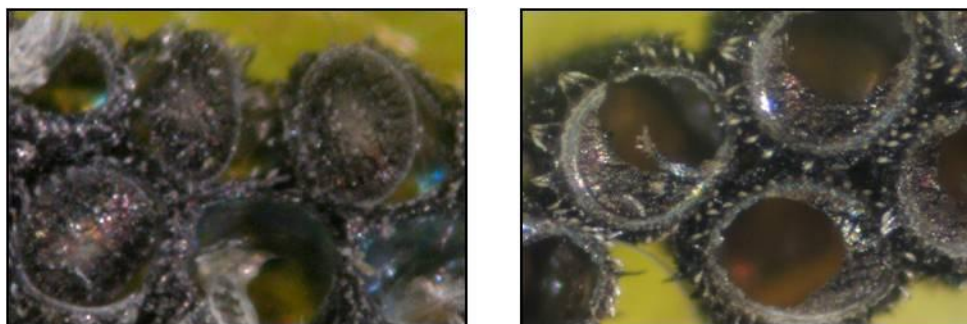


Figura 1.3. Posturas de *Piezodorus guildinii*. Izquierda: huevos con opérculo abierto; derecha: huevos con opérculo con orificio.

A nivel mundial, se han citado alrededor de 10 especies de esceliónidos parasitando posturas de *P. guildinii* (North Dakota State University, 2011), siendo las dominantes en la región *T. podisi* y *T. urichi* (Figura 1.4), las cuales presentan distribución neotropical (Johnson, 1984; Johnson, 1987). La “chinche” que coexiste con *P. guildinii*, *N. viridula*, es hospedador de cerca de 30 especies de esceliónidos, pertenecientes a los géneros *Trissolcus*, *Telenomus*, *Gryon* y *Psix*, si bien en la región Neotropical *T. basalis* domina ampliamente (Figura 1.4). El origen de *T. basalis* es incierto (Johnson, 1985b) y en la

actualidad tiene una distribución cosmopolita, ya que ha sido utilizada en muchos lugares del mundo como agente de control de *N. viridula*. Esta avispa fue registrada en la Argentina por primera vez en 1981 (La Porta & Crouzel, 1984).

En la Tabla 1.2 se enumeran las especies de esceliónidos encontradas parasitando las distintas especies del complejo de “chinchas” que atacan el cultivo de soja en la región Neotropical.

Tabla 1.2. Esceliónidos parasitoides de huevos de pentatómidos en la región Neotropical. Tomado de Castiglioni et al., 2005; Corrêa-Ferreira, 1996; Corrêa-Ferreira & Moscardi, 1995; Massoni & Frana, 2006c; Molinari et al., 2008.

Pentatomidae			
<i>P. guildinii</i>	<i>N. viridula</i>	<i>Edessa meditabunda</i>	<i>Dichelops furcatus</i>
<i>Telenomus podisi</i>	<i>T. podisi</i>	<i>T. urichi</i>	<i>T. urichi</i>
<i>Trissolcus urichi</i>	<i>T. urichi</i>	<i>T. basalis</i>	<i>T. basalis</i>
<i>Trissolcus basalis</i>	<i>T. basalis</i>	<i>Gryon scutellatus</i>	<i>Trissolcus teretis</i>
<i>Trissolcus brochymenae</i>			



Figura 1.4. Hembras adultas de los principales parasitoides esceliónidos presentes en la región, atacando posturas de pentatómidos. Izquierda: *T. podisi*; centro: *T. urichi*; derecha: *T. basalis*.

Los esceliónidos asociados a las “chinchas” de la familia Pentatomidae se desarrollan a partir de huevos del hospedador de no más de 72h, por lo que son considerados oófagos. La tasa de emergencia de la progenie es máxima cuando el parasitoidismo se produce sobre huevos de menos de 48h de desarrollo (Corrêa-Ferreira, 1993b). Esto determina una pequeña ventana temporal durante la cual los huevos de las “chinchas” representan un recurso disponible para el parasitoide.

La duración del desarrollo de cada estado de la avispa se ve influenciado fuertemente por la temperatura y la humedad a la cual son mantenidos los individuos, y en los adultos también es importante la disponibilidad de alimento. Volkoff & Colazza (1992) incubaron a 27°C posturas de *N. viridula* parasitadas por *T. basalis*, registrando una duración del estado de huevo de 17h. Luego de 55 a 60h se produce la muda al segundo estadio larval, y a las siguientes 65 a 75h la muda al tercer estadio larval. El estado de pupa dura entre 6 y 8 días, y el adulto emerge entre 11 y 13 días después del parasitoidismo. Adultos de *T. basalis* incubados a 26°C y alimentados *ad-libitum* mostraron una longevidad de 31,1 y 29,2 días para hembras y machos respectivamente, mientras que sin alimento la longevidad se redujo a 3 y 4,7 días (Corrêa-Ferreira, 1993b; La Porta, 1992).

En regiones subtropicales, estos parasitoides hibernan en estado adulto (Doetzer & Foerster, 2007), acompañando la hibernación de su hospedador.

Field et al. (1998) determinaron mediante disecciones, que la hembra adulta de *T. basalis* emerge con un complemento importante de huevos ya maduros, y luego va madurando más huevos a lo largo del tiempo, por lo que se trataría de una especie débilmente sinovigénica, según clasifica Jervis et al. (2001) el continuo de valores que puede tomar el índice de proovigenia (desde 1 para especies estrictamente proovigénicas, hasta 0 para especies estrictamente sinovigénicas).

Las hembras son arrenotóquicas, pudiendo controlar el sexo de la progenie al producir machos haploides a partir de huevos sin fecundar, o hembras diploides. La relación de sexos de la progenie suele estar fuertemente sesgada hacia las hembras, por ejemplo un macho de *T. basalis* cada 8,5 hembras (Corrêa-Ferreira, 1993b). Los machos, quienes emergen 1 ó 2 días antes que las hembras, se quedan patrullando la postura hasta la emergencia de sus hermanas, a las cuales copulan inmediatamente después de emerger.

Las hembras pueden poner huevos inmediatamente después de la emergencia, y su fecundidad es máxima alrededor de 48h después de emergidas (Corrêa-Ferreira, 1993b). La fecundidad promedio de la línea de *T. basalis* registrada en Brasil es de 250 huevos/hembra (Corrêa-Ferreira & Zamataro, 1989b).

Área de estudio

La información de campo y los individuos utilizados para realizar los experimentos pertenecen a poblaciones locales en cultivos de soja de la zona periurbana de la ciudad de La Plata (34°57'2,7''S; 58°04'55,9''O), Buenos Aires, Argentina.

Esta zona pertenece a la región pampeana (Cabrera, 1976). La vegetación natural ha sido reemplazada en gran medida fundamentalmente por cultivos de soja, maíz, pasturas y cultivos hortícolas. El clima es templado húmedo, siendo la variación térmica bien diferenciada entre una estación y otra, con veranos calurosos e inviernos fríos con escasas precipitaciones. La temperatura media anual es de 16,3°C y las primeras heladas ocurren durante los primeros días de junio y las últimas a comienzos de septiembre. Las precipitaciones medias anuales están calculadas en 1023mm, y la humedad relativa media anual de 77,6%. Los vientos dominantes son del sector Sudeste.

En verano, período durante el cual se desarrolla el cultivo de soja, la temperatura media (referida al período 1961-1990) es de 23,6°C, registrándose temperaturas máximas de 28,1°C, 30,4°C y 28,7°C y mínimas de 18,4°C, 20,4°C y 19,4°C para los meses de diciembre, enero y febrero respectivamente. La amplitud térmica diaria media es del orden de 10°C. Con respecto a la humedad relativa, los valores medios normales llegan a 63% en diciembre, 64% en enero y 68% en febrero. No obstante, ocasionalmente pueden presentarse veranos más húmedos, con valores medios de humedad relativa superiores al 80%. El verano es una estación muy lluviosa, donde la media estacional totaliza 341,6mm, repartidos en 26 días con lluvia, en promedio. Las precipitaciones promedio mensuales oscilan entre los 103,2mm, 121,6mm y 122,6mm durante los meses de diciembre, enero y febrero respectivamente (Servicio Meteorológico Nacional, 2011).

Las prácticas agronómicas en los cultivos de soja del área de estudio son las que se realizan comúnmente en las principales zonas productoras del país, mencionadas al comienzo de este capítulo. La superficie que ocupan los lotes de soja en el área de estudio son de entre 25 y 40ha, y relativamente más pequeños que los de las principales zonas productoras.

CAPÍTULO 2

**Parasitoides de huevos de *Piezodorus guildinii*
en el noreste de la provincia de
Buenos Aires: especies presentes y el impacto del
parasitoidismo**

CAPÍTULO 2

Parasitoides de huevos de *Piezodorus guildinii* en el noreste de la provincia de Buenos Aires: especies presentes y el impacto del parasitoidismo

Introducción

La gran expansión que ha tenido el cultivo de soja en estos últimos años originó cambios a nivel de los agroecosistemas, en particular en la “pampa ondulada”. Uno de estos cambios se observa en la oferta de este recurso alimentario para los hemípteros succionadores (“chinchas”), el cual ocupa un área cada vez mayor y durante un período de tiempo más prolongado. En particular, los cultivares de soja de grupos de madurez cortos, denominados en su conjunto como “soja de primera”, promueven la oferta de recursos alimenticios (vainas) en épocas tempranas. Las tecnologías de manejo aplicadas en la última década al cultivo de soja, han modificado el hábito de colonización, la abundancia y la composición específica del complejo de “chinchas” (Gamundi et al., 2003; Gamundi & Sosa, 2008). En particular, la abundancia relativa de la “chinche” de la alfalfa, *Piezodorus guildinii* (Westwood) aumentó notablemente en determinadas áreas de la provincia de Santa Fe y Buenos Aires (Gamundi et al., 2003; Gamundi & Sosa, 2008; Sosa & Parra, 1994). Por otro lado, las temperaturas mínimas elevadas que se vienen registrando en la región en los últimos años, podrían sumarse a las causas que determinan el incremento en la densidad de sus poblaciones (Massoni & Frana, 2006a).

Como se mencionó en el Capítulo 1, actualmente en la provincia de Buenos Aires, *P. guildinii* es la especie de “chinche” más importante en los cultivos de soja (Massoni & Frana, 2005, 2006b).

Diversas especies de plantas hospedantes permiten la persistencia de los pentatómidos durante períodos críticos del año, y en algunos casos hasta permiten su incremento poblacional (Kennedy & Storer, 2000; Panizzi, 1997). Luego de la hibernación, los adultos se reproducen desarrollando una primera generación sobre leguminosas

forrajeras o sobre la vegetación espontánea a principios de octubre (principalmente alfalfa, *Medicago sativa*, y trébol rojo, *Trifolium pratense*). Desde allí colonizan la soja en la etapa de floración o poco antes (a comienzos de diciembre), donde transcurren 3 generaciones relativamente discretas (Aragón et al., 1997; Iannone & Leiva, 1994; Massoni & Frana, 2005; 2006b). La calidad de estos fragmentos de hábitat influye sobre el desarrollo y supervivencia de los individuos que invaden el cultivo de soja. Así mismo, el efecto de la mortalidad causada por depredadores y parasitoides en dichos fragmentos, determinará el subsecuente crecimiento y la dinámica de la población de la plaga en el cultivo (Edelstein et al., 2008).

Distintos aspectos de las plantas sobre las cuales se alimentan los fitófagos pueden influir en el desempeño de sus enemigos naturales en el marco de las interacciones tritróficas (Agrawal, 2000). Las plantas proveen tanto claves olfativas como visuales, que son aprovechadas por los parasitoides en los procesos de identificación del hábitat, localización del hospedador y aceptación del mismo (Godfray, 1994; Vinson, 1975; Vinson et al., 1998; Whitman & Nordlund, 1994). Para ello los parasitoides deben ser capaces de encontrar objetivos pequeños y dispersos en un ambiente química y espacialmente complejo, desarrollando estrategias eficientes para localizar los hospedadores en ambientes heterogéneos. Dichas estrategias incluirán la explotación de numerosas claves sensoriales, y tácticas de forrajeo, a diferentes escalas espaciales. En este sentido, se asume que los insectos perciben su entorno como un sistema jerárquico (Bell, 1990). Tres categorías generalmente consideradas son: (1) el hábitat, como conjunto de manchones, (2) los manchones, como agregaciones de la unidad de recurso, y (3) la unidad de recurso, lo cual incluye a las presas, los hospedadores, las parejas, las fuentes de alimento o el refugio. En ese proceso, los parasitoides utilizan semioquímicos, claves visuales, y aprendizaje asociativo para elegir las áreas más propicias donde encontrar hospedadores, aprovechando los estímulos provenientes de los mismos, los estímulos indirectos asociados con su presencia (aleloquímicos, secreciones glandulares, etc) y los estímulos provenientes de la planta a la cual se asocia el hospedador (Godfray, 1994).

Colazza et al. (2004, 2009) encontraron que los volátiles emitidos por varias especies de leguminosas frente a la alimentación, la oviposición y el movimiento de los individuos de *N. viridula* resultaron atrayentes para *T. basalis*.

Tanto en el cultivo de soja como en los hábitats aledaños, los principales enemigos naturales que contrarrestan el incremento numérico de *P. guildinii* son los parasitoides oófagos. En Brasil, las especies registradas a partir de posturas de esta “chinche” fueron *Telenomus podisi*, *Trissolcus urichi*, *Trissolcus basalis*, *Trissolcus brochymenae* (Scelionidae), *Ooencyrtus submetallicus*, *Ooencyrtus sp* (Encyrtidae), *Neorileya sp* (Eurytomidae) y 3 especies no determinadas pertenecientes a la familia Pteromalidae (Corrêa-Ferreira & Moscardi, 1995; Thomazini, 2001; Venzon et al., 1999). En Uruguay se registraron *T. podisi*, *T. urichi*, *T. basalis*, *T. brochymenae* y *Trissolcus teretis* (Castiglioni et al., 2005; Castiglioni et al., 2010). En la Argentina se conoce que las especies de parasitoides de huevos de *P. guildinii*, en la provincia de Córdoba (La Porta, 2007) y la de Santa Fe (Molinari, 2005), son *T. podisi* y *T. basalis*.

Las especies de parasitoides mencionadas poseen, dentro de su rango de hospedadores, otras especies de “chinches” que están presentes en el área de estudio (Molinari et al., 2008). La presencia de estos hospedadores en la trama trófica puede ser un factor relevante en el mantenimiento de las poblaciones de parasitoides, en situaciones de escasez del hospedador preferido.

El impacto del parasitoidismo depende de la eficiencia en la detección de posturas del hospedador, así como de la eficiencia del parasitoidismo. El tamaño de la postura en particular puede influir en esta última, ya que si la respuesta del parasitoide es densodependiente directa, el impacto del parasitoidismo aumentará con el aumento de tamaño de la postura.

Por otra parte, en las interacciones entre depredadores o parasitoides y sus presas u hospedadores, variaciones espaciales de la densidad de los individuos de una especie pueden dar como resultado la agregación de individuos de otra especie. Cuando las presas u hospedadores están agregados, los enemigos naturales pueden concentrar su búsqueda en áreas de mayor densidad (Godfray et al., 2000; Hassell, 2000; Hassell & May, 1974). En este caso, los huevos del hospedador están agregados en masas de huevos (posturas), y su densidad puede influir en la proporción de parasitoidismo según la escala espacial considerada. La densidad de masas de huevos por planta o conjunto de plantas, y la densidad de huevos por postura, pueden incrementar la proporción de individuos parasitados.

La teoría del forrajeo óptimo sugiere que los parasitoides pueden maximizar su tasa de oviposición, agregándose en grupos de hospedadores de alta densidad, y varios parasitoides muestran esta respuesta en ensayos de laboratorio. Estos factores suelen generar “refugios parciales” para los hospedadores, los cuales contribuyen a la estabilidad de la interacción parasitoide-hospedador. Por otra parte, varios estudios han demostrado que aún cuando el factor de mortalidad es densodependiente inverso, o densoindependiente puede existir estabilidad cuando la distribución del riesgo del hospedador a ser parasitado es suficientemente agregada, es decir que diferentes características individuales de los hospedadores y de los parasitoides provocan una distribución diferencial del riesgo de parasitoidismo (Hassell & May, 1973; 1974; May, 1978; Murdoch, 1977; Murdoch & Oaten, 1975). A pesar de las ventajas que ofrece el hecho de seleccionar agregaciones de mayor abundancia para los parasitoides, la interferencia entre ellos (Sutherland, 1983; Visser et al., 1999), el multiparasitoidismo (Lessells, 1985), el hiperparasitoidismo (Loch & Zalucki, 1998), y la interferencia con otros enemigos naturales (Strong, 1989), pueden provocar una redistribución de los parasitoides a fin de evitar tales efectos negativos, como sugiere la teoría de la distribución libre ideal (Fretwell & Lucas, 1970).

Los patrones espaciales de parasitismo en relación a la densidad del hospedador, dependen de la escala considerada (Hassell & May, 1974; Lessells, 1985; Stiling, 1987; Walde & Murdoch, 1988). En el caso de los esceliónidos parasitando huevos de *P. guildinii*, si bien se conoce que posee una alta capacidad de búsqueda, a la escala de una postura individual se espera una respuesta densoindependiente, ya que se ha observado interferencia (Corrêa-Ferreira, 1993; Field & Calbert, 1999; Sujii et al., 2002), superparasitismo (Braman & Yeorgan, 1989) y saturación de la respuesta numérica (Colazza & Bin, 1995; Laumanm et al., 2008) en el proceso de parasitoidismo.

Objetivos:

- caracterizar la importancia de posturas de *P. guildinii*, así como de posturas de los otros recursos disponibles para sus parasitoides en el noreste de la provincia de Buenos Aires,

- analizar las variaciones de abundancia de posturas de *P. guildinii* en soja, alfalfa y trébol rojo,
- conocer las especies de parasitoides oófagos de *P. guildinii*, en los cultivos de soja, así como en parcelas aledañas de alfalfa y trébol rojo,
- estimar el impacto del parasitoidismo, del conjunto de los parasitoides y de cada una de las especies de parasitoides encontradas sobre *P. guildinii* y sus otros recursos,
- evaluar la influencia del tamaño de las posturas (huevos por postura) sobre el parasitoidismo causado por cada especie.

Materiales y métodos

Este estudio fue realizado en un lote de soja, uno de alfalfa consociada con gramíneas y uno de trébol rojo, de aproximadamente 3.500m² (70m x 50m) cada uno, implantados en la Estación Experimental “Julio Hirschhorn” de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata. El cultivo de soja fue muestreado durante 5 temporadas (desde 2006-2007 hasta 2010-2011), y los de alfalfa y trébol rojo durante 3 temporadas (desde 2008-2009 hasta 2010-2011). A continuación se detallan los cultivares de soja implantados y fecha de siembra. Temporada 2006-2007: variedad Don Mario 4600 (grupo de madurez IV), 5 y 6 de noviembre de 2006; temporada 2007-2008: variedad Don Mario 4800 (grupo de madurez IV), 13 de noviembre de 2007; temporada 2008-2009: variedad Don Mario 4789 (grupo de madurez IV), 20 de noviembre de 2008; temporada 2009-2010: variedad Don Mario 4870 (grupo de madurez IV), 18 de noviembre de 2009; y temporada 2010-2011: variedad Don Mario 4970 (grupo de madurez IV), 4 de noviembre de 2010.

Las prácticas de manejo realizadas en el lote de soja consistieron solamente en la aplicación de herbicida (glifosato) 15 a 20 días antes y después de la siembra, y una aplicación del fungicida carbendazim y el plaguicida metamidofós aproximadamente un mes después de la siembra, cuando la soja aún se encontraba en estado vegetativo. Los lotes

de alfalfa y de trébol rojo no fueron tratados. Para cada temporada se describieron los patrones de temperatura y precipitaciones utilizando los registros del Servicio Meteorológico Nacional Argentino correspondientes al área de estudio.

Durante el período comprendido entre el comienzo de la floración de la soja, hacia fines de diciembre, y la cosecha del cultivo, a principios de abril (14 semanas aproximadamente), se tomaron muestras semanales de posturas de *P. guildinii*. También se colectaron las posturas de los otros pentatómidos presentes, posibles hospedadores compartidos por los parasitoides que atacan a *P. guildinii*. Cada muestra estuvo integrada por 400 unidades de muestra tomadas al azar. La unidad de muestra fue la planta, en la cual se revisaron todos los folíolos de los dos tercios superiores y se registró el número de posturas encontradas. Si bien no se cuantificó el efecto de la remoción de posturas sobre la densidad de las mismas en la siguiente muestra, se considera que el número de plantas a partir de las cuales se obtuvieron las posturas permite estimar los indicadores del impacto del parasitodismo sin afectar significativamente a la población de “chinchas”. Considerando que la siembra fue realizada a 50cm entre surcos y con alrededor de 14 plantas por metro lineal de surco, las 400 plantas a partir de las cuales se extrajeron las posturas representaron solamente un 1% del total de las plantas del lote.

Las posturas fueron llevadas al laboratorio y mantenidas individualmente en tubos de ensayo tapados con algodón, a 20°C, 70%HR y 14h de fotofase, hasta la emergencia de ninfas o avispas. De cada postura se registró el tamaño (número de huevos), el número de ninfas emergidas, y el número, sexo y especie de los parasitoides emergidos.

Los muestreos en alfalfa y trébol rojo se realizaron desde el estado vegetativo (mediados de diciembre) hasta el estado de frutos secos (principios de mayo). Debido a la mayor cobertura vegetal y al pequeño tamaño de los folíolos de estos cultivos, la visualización de las posturas resulta difícil mediante inspecciones oculares de las plantas, por lo cual se decidió realizar el muestreo utilizando red de arrastre. Cada muestra consistió de 15 transectas (unidades de muestra) dispuestas al azar dentro del lote, a lo largo de las cuales se efectuaron 10 golpes de red y se colectaron todas las posturas obtenidas.

Se calculó la proporción de huevos parasitados/postura para cada cultivo y temporada. La relación con ambos factores fue analizada mediante el modelo lineal

generalizado (MLG) Poisson, con función de enlace log. Los efectos de los factores fueron evaluados a través del cambio en la devianza, mediante la prueba de χ^2 .

Se estimó el impacto del parasitoidismo en su conjunto, y por especie, utilizando los índices definidos por Bin & Vinson (1990):

- la eficiencia en la detección de posturas (EDP) (“discovery efficiency”): número de posturas parasitadas / número total de posturas colectadas;
- la eficiencia del parasitismo (EP) (“parasitism efficiency”): número total de huevos parasitados / número total de huevos de las posturas que fueron parasitadas;
- el impacto del parasitoide (IP) (“parasitoid impact”): número total de huevos parasitados / número total de huevos colectados.

Las posturas que fueron encontradas ya emergidas, discriminando entre huevos de los que habían emergido ninfas (opérculo abierto) y huevos de los que habían emergido parasitoides (opérculo agujereado), fueron consideradas solamente para estimar el impacto de los parasitoides en su conjunto, ya que a partir de estas posturas no es posible determinar la especie y el sexo de los parasitoides emergidos.

Los parasitoides emergidos en el laboratorio fueron determinados utilizando las claves de Johnson (1985a, 1985b, 1987), previo entrenamiento en el uso de las mismas guiado por especialistas en la sistemática de esta familia.

Transcurridos 20 días después de la colecta, los huevos no eclosionados fueron disecados, y se discriminó entre cuatro clases:

- huevos cerrados con ninfa muerta;
- huevos cerrados con pupa o adulto del parasitoide totalmente formado y muerto;
- huevos cerrados con contenido incierto;
- huevos cerrados vacíos: infértiles, canibalizados o depredados por succionadores.

Los huevos cerrados con contenido incierto presentaban en su interior una sustancia viscosa, amarillenta, que podría sugerir parasitoidismo no exitoso (Ganesalingam, 1966) o alguna otra causa de mortalidad, y por ello no fueron tenidos en cuenta en el conteo de huevos parasitados.

Cada indicador del impacto del parasitismo, sin discriminar por especie de parasitoide, fue analizado en función de los cultivos mediante el modelo lineal generalizado (MLG) Normal, con función de enlace log. Los efectos de todos los modelos fueron evaluados a través del cambio en la devianza, mediante la prueba de χ^2 .

Se realizó una regresión entre la proporción de parasitoidismo de *T. podisi* y de *T. urichi* por postura, y el tamaño de la postura de *P. guildinii* atacada, previa transformación angular de la variable dependiente.

Resultados y discusión

En los tres cultivos estudiados se colectaron posturas de cuatro especies de pentatómidos (*P. guildinii*, *Nezara viridula*, *Edessa meditabunda* y *Dichelops furcatus*). *P. guildinii* fue la especie dominante en todos ellos, representando como mínimo el 79% de las posturas colectadas en cada temporada. La abundancia de posturas de las otras especies fue variable entre las temporadas (Tabla 2.1). La representatividad de esta especie presentó un patrón similar a partir de información complementaria obtenida en recolecciones de ninfas y adultos con red de arrastre (80% de *P. guildinii*, 15% *N. viridula*, 2% *E. meditabunda* y 3% *D. furcatus*), realizadas con el fin de establecer las colonias en el laboratorio.

Tabla 2.1. Número total de posturas y huevos de pentatómidos colectadas en cada temporada, en lotes de soja, alfalfa y trébol rojo.

Temporada	Cultivo	Número de posturas colectadas (huevos)			
		<i>P. guildinii</i>	<i>N. viridula</i>	<i>E. meditabunda</i>	<i>D. furcatus</i>
2006-2007	soja	37 (676)	1 (84)	0	2 (26)
2007-2008	soja	30 (527)	3 (236)	4 (56)	1 (15)
2008-2009	soja	68 (1343)	4 (309)	4 (45)	3 (41)
	alfalfa	19 (367)	0	1 (14)	0
	trébol rojo	6 (75)	0	0	0
2009-2010	soja	10 (199)	0	0	0
	alfalfa	20 (415)	0	0	0
	trébol rojo	7 (91)	0	0	0
2010-2011	soja	51 (932)	12 (790)	0	1 (5)
	alfalfa	75 (1272)	0	0	0
	trébol rojo	8 (98)	0	0	2 (28)
TOTAL		331 (5995)	20 (1419)	9 (115)	9 (115)

Si bien la abundancia de posturas no es comparable entre los cultivos debido a la diferencia en los métodos de muestreos utilizados en uno y otro cultivo, el patrón temporal de registro de posturas de *P. guildinii* varió en los cultivos de las tres plantas hospedantes presentes en el sistema de estudio (Figura 2.1). En soja, durante enero se registró una primera generación de baja densidad y luego se observó un incremento del número de posturas, correspondiente a la segunda generación, que alcanzó el máximo entre fines de febrero y mediados de abril en las distintas temporadas. Esa mayor abundancia coincidió con la última etapa de la floración, y todo el período de fructificación del cultivo. Una tercera generación fue difícil de identificar. En alfalfa, las mayores abundancias de posturas se registraron entre principios de febrero y mediados de marzo en la temporada 2010-2011, a fines del estado de floración y comienzos de la fructificación de este cultivo. Este patrón responde a lo esperado ya que se conoce que *P. guildinii* desarrolla, luego de la

hibernación, una primera generación sobre esta planta hospedante, y el pico de abundancia que muestra la figura 2.1 representaría la segunda generación. Durante las temporadas 2008-2009 y 2009-2010 las condiciones meteorológicas podrían haber afectado a sus poblaciones directamente y/o a través del recurso, lo que explicaría el retraso temporal, que también se manifestó en soja. En 2008-2009 se observó un menor desarrollo del cultivo debido a la inusual escasez de precipitaciones (Figura 2.6) y esto podría haber afectado también las condiciones del mismo en la siguiente temporada, ya que se trata de un cultivo perenne en el cual no se realizaron prácticas de manejo para mejorarlas. Posteriormente, se observó una recuperación del cultivo en la temporada 2010-2011. No obstante estas variaciones registradas entre temporadas, la colonización de la alfalfa fue previa a la de la soja. Con respecto al trébol rojo, se observa la importancia de este cultivo como recurso disponible en el momento en que finaliza la hibernación de *P. guildinii* y la soja aún no está en el estado fenológico adecuado para esta “chinche”.

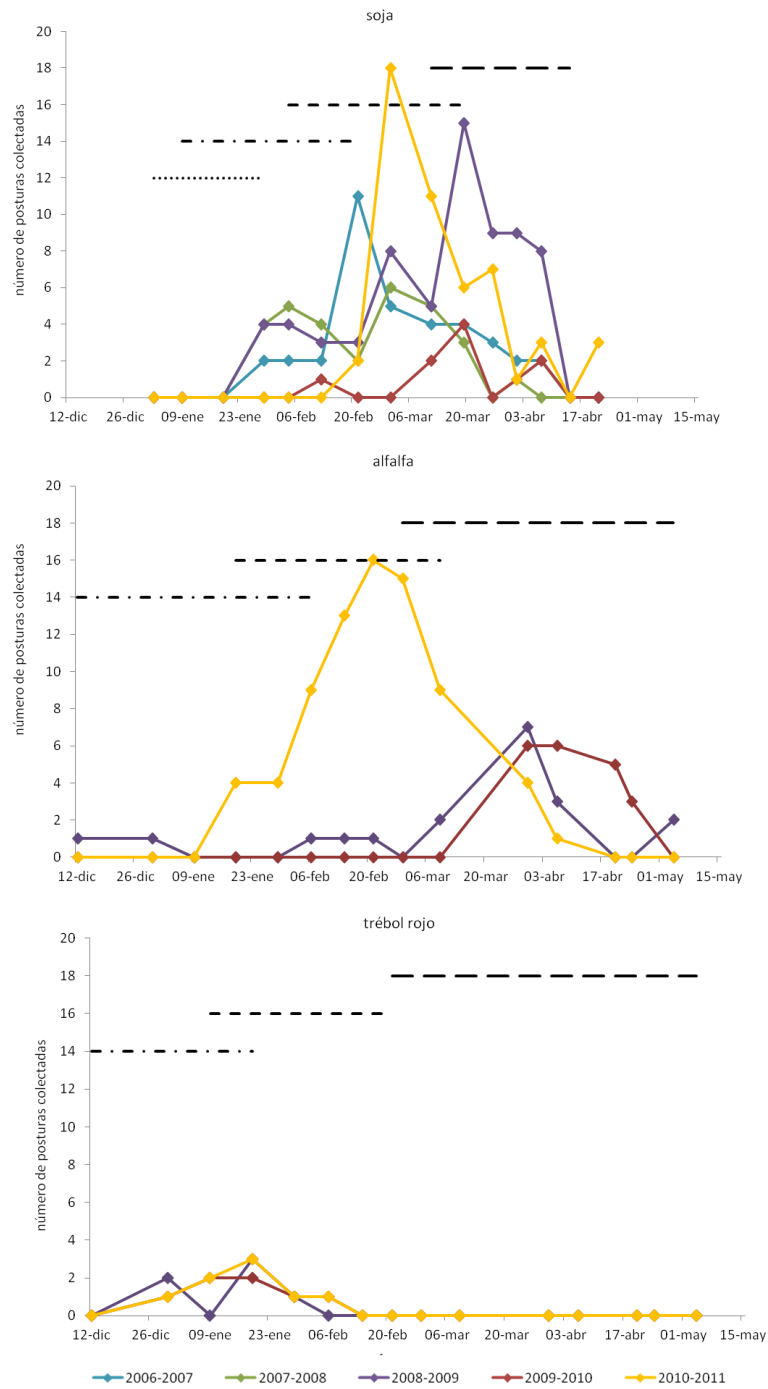


Figura 2.1. Cantidad de posturas de *P. guildinii* colectadas por muestra, en las distintas temporadas. Las líneas horizontales indican el estado fenológico en el que se encuentra generalmente el cultivo a lo largo de la temporada (puntos: vegetativo; guión-punto: flor; guión: fruto; guión largo: seco en pie). Arriba: soja; medio: alfalfa; abajo: trébol rojo.

Los parasitoides registrados en posturas de *P. guildinii* fueron *T. podisi*, *T. urichi* y *T. basalis*, y solo se detectó parasitoidismo en soja y en alfalfa.

En las figuras 2.2 y 2.3 se presentan las tramas tróficas cualitativas de la comunidad de pentatómidos y sus parasitoides oófagos encontrados en soja y alfalfa, respectivamente, durante el período de estudio. Tanto la comunidad de fitófagos, como la de parasitoides oófagos, fueron más complejas en soja que en alfalfa, encontrándose en el primero de los cultivos varios hospedadores que son compartidos por los parasitoides que atacan a *P. guildinii*.

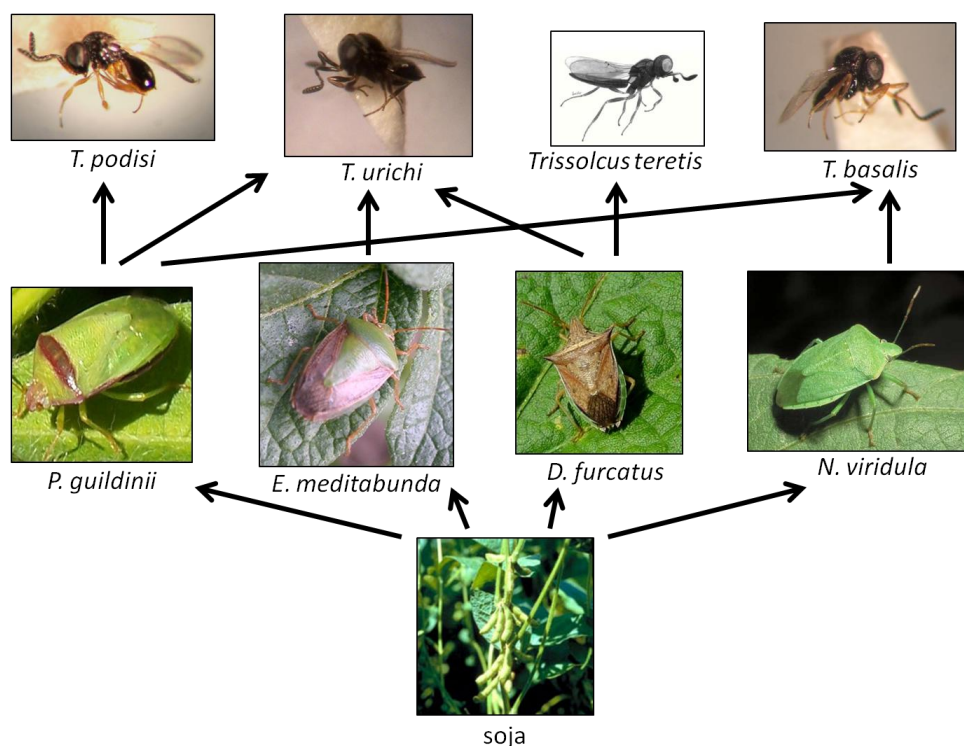


Figura 2.2. Trama trófica de la comunidad de pentatómidos y sus parasitoides oófagos en soja.

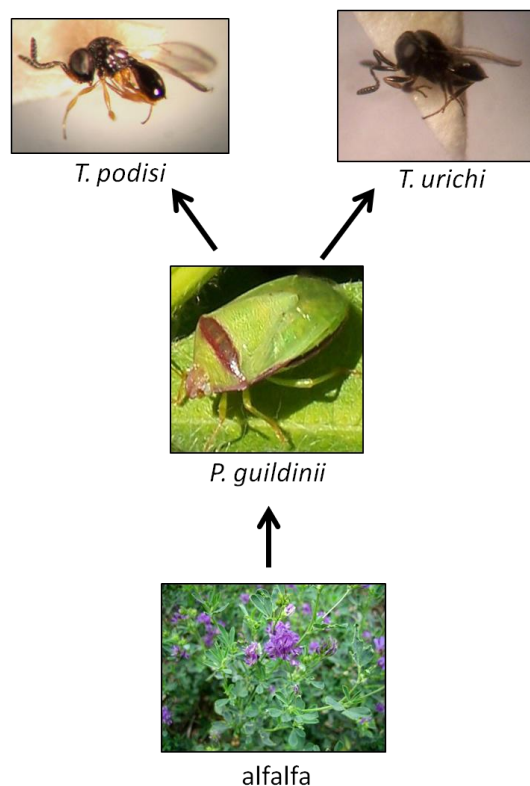


Figura 2.3. Trama trófica de la comunidad de pentatómidos y sus parasitoides oófagos en alfalfa.

El 87,40 % de todas las posturas de pentatómidos colectadas fue encontrado aún sin emerger. El porcentaje de emergencia de “chinchas” y/o parasitoides a partir de los huevos de esas posturas fue alto (90,37%). El resto de los huevos permanecieron cerrados luego de ser incubados por 20 días después de la fecha de colecta, por lo cual fueron disecados para evaluar su contenido. En la Figura 2.4 se observa que se registraron porcentajes pequeños, y semejantes, de huevos con ninfa muerta y con contenido incierto, mientras que aún menores fueron los porcentaje de huevos con pupas o adultos del parasitoide totalmente formados y muertos, y huevos vacíos (infértiles, canibalizados o depredados por succionadores).

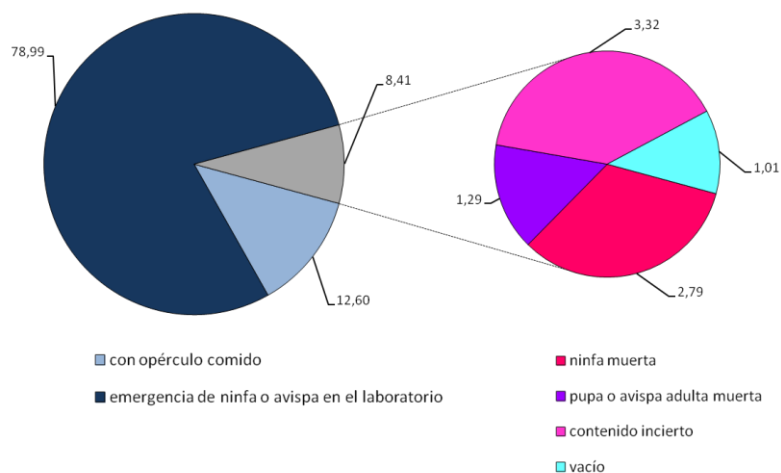


Figura 2.4. Porcentaje de huevos de pentatómidos eclosionados, con opérculo comido y no eclosionados, y porcentaje de distintas clases de huevos no eclosionados según el contenido encontrado luego de la disección, en los cultivos de soja, alfalfa y trébol rojo.

Parasitoidismo de *P. guildinii* por el conjunto de especies de parasitoides

Las temporadas explican la mayor parte de la variación en la proporción de huevos parasitados/postura de *P. guildinii* (Tabla 2.2, Figura 2.5), aunque representa el 19,36% de la variación con respecto al modelo nulo.

Tabla 2.2. Resultados del MLG Poisson con función de enlace log, para la proporción de huevos parasitados/postura de *P. guildinii*, al incluir en el modelo las temporadas y los cultivos como variables predictoras. El cambio en la devianza luego de la inclusión de los factores en el modelo fue analizado mediante la prueba de χ^2 ($p < 0,05$).

Modelo	devianza	cambio en la devianza	g.l.	g.l. del cambio en la devianza	p
Intercepto	162,092		266		
Int. + temporadas	128,855	33,237	264	2	< 0,001
Int. + cultivos	158,562	3,53	265	1	0,060
Int. + temporadas + cultivos	128,83	0,025	261	3	0,999

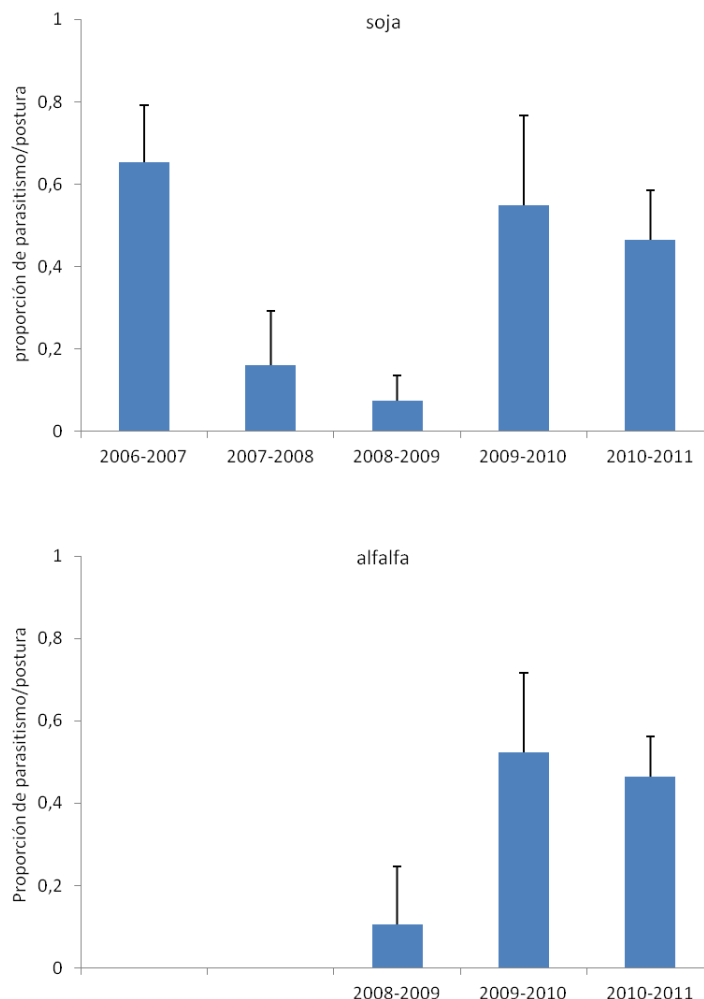


Figura 2.5. Proporción de parasitoidismo de huevos/postura de *P. guildinii*, sin discriminar por especie de parasitoide, en soja (arriba) y en alfalfa (abajo), en las distintas temporadas. Las barras indican el intervalo de confianza al 95%.

La eficiencia en la detección de posturas de *P. guildinii* (EDP), del conjunto de los parasitoides (sin discriminar por especie) fue variable en las distintas temporadas, tanto en soja como en alfalfa (Tabla 2.3), siendo particularmente baja en 2007-2008 y 2008-2009. Si bien en esas temporadas la eficiencia del parasitismo (EP) fue la mayor registrada, la baja detección de posturas condujo a un bajo impacto del parasitismo (IP) en general.

Los cultivos no explicaron la variación en los indicadores del parasitismo (Tabla 2.4).

Tabla 2.3. Eficiencia en la detección de posturas (EDP), eficiencia del parasitoide (EP) e impacto del parasitismo (IP) del conjunto de parasitoides que atacaron las posturas de *P. guildinii* en las distintas temporadas, en un cultivo de soja y uno de alfalfa.

TEMPORADA	<i>Indicadores del impacto del parasitoidismo</i>					
	SOJA			ALFALFA		
	EDP	EP	IP	EDP	EP	IP
2006-2007	0,811	0,763	0,623	-	-	-
2007-2008	0,167	0,959	0,133	-	-	-
2008-2009	0,089	0,829	0,051	0,158	1	0,139
2009-2010	1	0,547	0,547	0,7	0,729	0,545
2010-2011	0,588	0,807	0,453	0,6	0,776	0,459
Promedio	0,531	0,781	0,361	0,486	0,835	0,381

Tabla 2.4. Resultados del MLG Normal con función de enlace log, para los indicadores de parasitismo, al incluir en el modelo los cultivos de soja y alfalfa. El cambio en la devianza luego de la inclusión del factor en el modelo fue analizado mediante la prueba de χ^2 ($p < 0,05$).

Indice	Modelo	Devianza	Cambio en la devianza	g.l.	g.l. del cambio en la devianza	p
EDP	Intercepto	0,80		7		
	Int. + cultivos	0,796	0,038	6	1	0,951
EP	Intercepto	0,138		7		
	Int. + cultivos	0,131	0,0064	6	1	0,936
IP	Intercepto	0,352		7		
	Int. + cultivos	0,351	0,0008	6	1	0,977

El bajo parasitoidismo en las temporadas 2007-2008 y 2008-2009 se corresponde con años secos. Según información del Boletín Agroclimático para la provincia de Buenos

Aires que emite el Servicio Meteorológico Nacional (2011) (Figura 2.6), hacia finales de diciembre de 2007 se fue agudizando la sequía que se venía registrando, ya que las precipitaciones fueron siempre escasas y se fueron consumiendo las reservas hídricas del suelo. Durante enero y febrero las lluvias fueron algo escasas y muy variables, provocando mayores limitantes en el Este de la región. En diciembre de 2008 este fenómeno se acentuó en muchos sitios, especialmente en el Sur y Este de la región. Las mayores precipitaciones se registraron tardíamente, en marzo y abril. Durante enero de 2009, a la falta de lluvias se sumaron varios días consecutivos de elevadas temperaturas y baja humedad ambiente, con efecto muy desecante, condición que afectó de manera importante a los cultivos de soja. Esto se vio reflejado en una importante pérdida de plantas y ataque de plagas asociadas a la condición de ambiente seco, como tucuras, moscas blancas, trips y arañuelas (Iannone, 2009; Massoni & Frana, 2010). Los rendimientos de la soja en esa campaña fueron bajos (entre 1.000 y 1.800kg/ha). En la temporada 2010-2011, si bien las precipitaciones fueron bastante escasas, se registraron temperaturas algo más bajas.

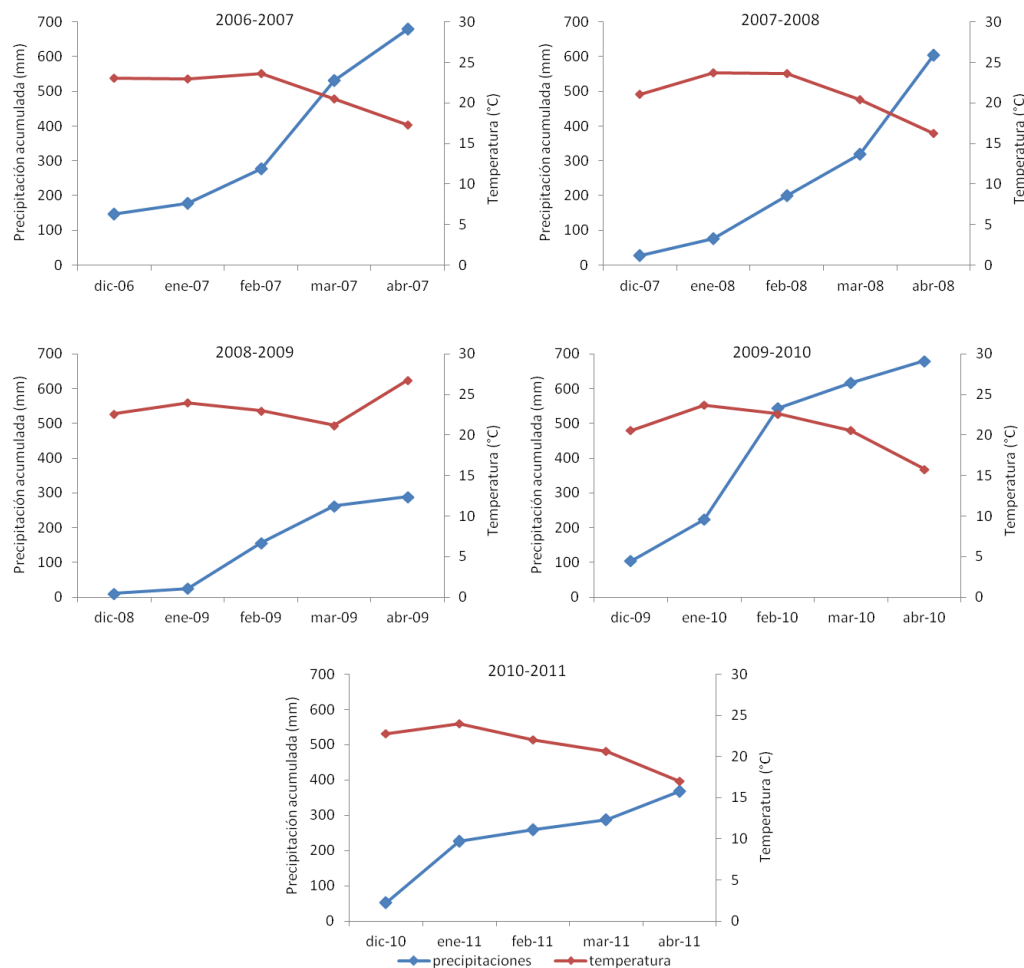


Figura 2.6. Temperaturas y precipitaciones promedios mensuales para el área de estudio, durante el período de estudio (Fuente: Servicio meteorológico nacional).

El efecto de la temperatura y la humedad relativa sobre el desarrollo y el desempeño de los insectos está ampliamente documentado (Nation, 2008; Schowalter, 2006). Esto ha sido estudiado sobre varias especies de pentatómidos (Ali & Ewiess, 1977; Cividanes & Parra, 1994; Jones & Westcot, 2002; Musolin et al., 2010; Musolin & Numata, 2003; Vivan & Panizzi, 2005). Si bien no se conoce en detalle para *P. guildinii*, según Vivan y Panizzi (2005), la fecundidad de *N. viridula* fue nula a 15°C y máxima a 29°C. La supervivencia de ninfas también fue mayor a 29°C. Resultados similares fueron encontrados por Cividanes y Parra (1994) para *Euschistus heros*.

Por otro lado, diversos autores han estudiado el desempeño de varias especies de esceliónidos al parasitar huevos de pentatómidos en laboratorio, a distintas temperaturas (Awadalla, 1996; Cividanes & Figueiredo, 1996a; James & Warren, 1991; Orr et al., 1985; Yeargan, 1982; Yeargan, 1983). En general, la mayor proporción de parasitoidismo y de emergencia de parasitoides adultos fue registrada a 25°C, y el desempeño de estas especies fue muy bajo o nulo a temperaturas inferiores a 15°C y superiores a 30°C. Orr et al. (1985) también evaluaron el efecto del porcentaje de humedad relativa sobre el desempeño de *Telenomus chloropus* y *T. basalis* sobre huevos de *N. viridula*. Ellos encontraron que *T. basalis* se desarrolló exitosamente en el rango de humedades relativas entre 64 y 100%, pero *T. chloropus* solo logró emerger a 85%HR o más.

Considerando que el promedio histórico de humedad relativa para la zona estudiada oscila entre 63% (para el mes de diciembre) y 76% (para el mes de marzo) (información de la Organización Meteorológica Mundial), período durante el cual que se encuentran implantados los cultivos estudiados, las altas temperaturas registradas durante las dos temporadas en que las precipitaciones fueron escasa podrían haber aportado un importante efecto desecante del ambiente. En la figura 2.7 se representa la combinación de temperatura promedio y precipitación promedio mensuales para las dos temporadas con condiciones más contrastantes: 2008-2009 seca, y 2009-2010 húmeda. Si bien la figura representa las temperaturas a partir del promedio mensual, cabe recordar que durante la temporada 2008-2009 se sucedieron varios días consecutivos con temperaturas máximas muy elevadas.

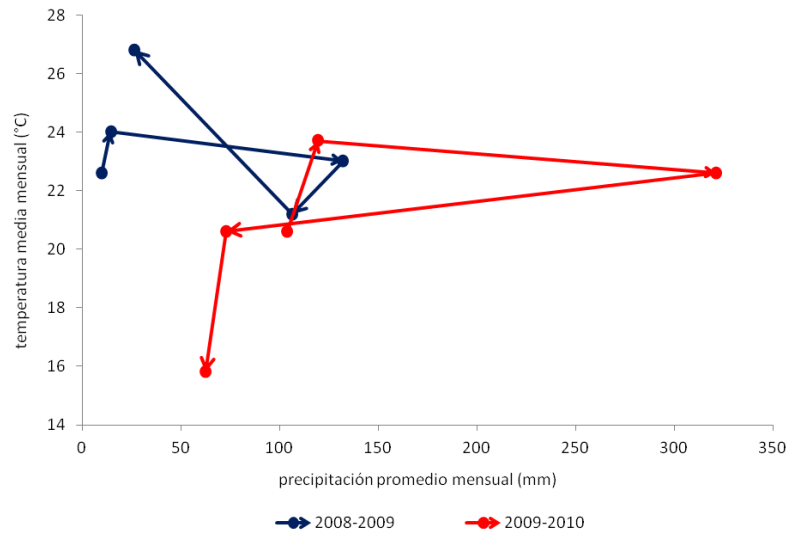


Figura 2.7. Temperatura y precipitación promedios mensuales. Cada punto en la línea representa un mes, desde diciembre hasta abril.

En base a las diferencias en los rangos óptimos de temperatura entre los pentatómidos y los esceliónidos, mencionadas anteriormente, las condiciones ambientales en las dos temporadas secas habrían resultado relativamente más favorables para las “chinchas”, que para los parasitoides, lo cual podría explicar en parte los bajos porcentajes de parasitoidismo en dichos períodos.

En muchos casos, las divergencias entre las preferencias térmicas de los hospedadores y las de sus parasitoides llevan a la disrupción de la sincronía o coincidencia espacial entre ellos, incrementando el riesgo de brotes de plagas (Berryman, 1987). La sincronía fenológica entre las plantas y los herbívoros, y entre los hospedadores y sus parasitoides puede desacoplarse si las interacciones son afectadas diferencialmente por variaciones en la temperatura. La exposición a temperaturas extremas induce efectos letales o subletales en los parasitoides, causando menor longevidad, fecundidad, movilidad, habilidad de orientarse hacia las fuentes de olor, y capacidad de aprendizaje (Hance et al., 2007). Por otra parte, Godfray et al. (1994) afirmaron que la asincronía fenológica puede estabilizar una interacción que de otra manera sería inestable. Por lo tanto puede decirse en general que las fluctuaciones anuales en la sincronía entre las poblaciones de hospedadores y de parasitoides tienen un efecto importante sobre la persistencia de la interacción.

Parasitoidismo de huevos de los otros pentatómidos

El análisis de las posturas de *N. viridula*, indicó una EDP=0,65, y de las mismas emergió solamente *T. basalis*. El porcentaje promedio de parasitoidismo/postura fue de 99,61%. Los resultados indican el alto impacto de parasitoidismo de esta especie sobre *N. viridula* y sugieren una escasa importancia de esta “chinche” como hospedador alternativo para las otras especies de parasitoides.

A partir de las posturas de *E. meditabunda* emergió solamente *T. urichi* (EDP=0,12) y de las posturas de *D. furcatus* emergieron *T. urichi* y *T. teretis* (EDP total=0,29). Si bien, el porcentaje de parasitoidismo/postura de estas dos especies de “chinches” fue en todos los casos del 100%, el impacto del parasitoidismo sería bajo, debido probablemente a la baja detección de posturas que además estaría relacionado con la baja densidad de estos hospedadores. En la provincia de Córdoba, donde la representatividad de estas “chinches” es mayor, el parasitoidismo registrado fue también mucho más alto (entre 46 y 70%) (La Porta, 2007).

Parasitoidismo de *P. guildinii* por cada especie de parasitoide

En relación a las especies de parasitoides emergidas en el laboratorio a partir de posturas de *P. guildinii*, el 76,22% de las avispas fueron *T. podisi*, lo cual indica que ésta fue la especie predominante. El parasitoidismo por esta especie fue registrado durante todas las temporadas de estudio, tanto en soja como en alfalfa. Por su parte, *T. basalis* representó el 6,77% de las avispas nacidas, emergiendo tanto a partir de posturas colectadas en soja como de las colectadas en alfalfa, aunque no en todas las temporadas. *T. urichi* fue registrada sólo en la temporada 2010-2011, en ambos cultivos, y representó el 17,01% del total de los parasitoides emergidos. En la tabla 2.5 se muestran los porcentajes de emergencia de cada una de las especies que parasitaron posturas de *P. guildinii*, discriminando por cultivo y por temporada.

Tabla 2.5. Porcentaje de emergencia de los parasitoides que atacaron las posturas de *P. guildinii* en las distintas temporadas, en un cultivo de soja y uno de alfalfa.

	soja					alfalfa		
	2006-2007	2007-2008	2008-2009	2009-2010	2010-2011	2008-2009	2009-2010	2010-2011
<i>T. podisi</i>	84,87%	100%	56,92%	100%	84,08%	60,71%	100%	57,56%
<i>T. urichi</i>	0	0	0	0	7,27%	0	0	42,44%
<i>T. basalis</i>	15,13%	0	43,08%	0	8,65%	39,29%	0	0

Ribeiro & Castiglioni (2008) también encontraron altos porcentajes de parasitoidismo de posturas de *P. guildinii* por parte de *T. podisi* (99,65%) en cultivos de soja del Uruguay, y un bajo parasitoidismo por parte de *T. basalis* (0,04 %). Estos autores registraron además la ocurrencia de *Trissolcus brochymenae*, especie que no fue encontrada en este estudio. En cambio, el parasitoidismo de huevos de *P. guildinii* en la localidad de Londrina (Paraná, Brasil) fue causado principalmente por *T. basalis*, seguido de *T. podisi*, y el incremento del parasitoidismo por *T. basalis* estaría relacionado con las frecuentes liberaciones de este parasitoide realizadas en el área. También se registró la emergencia de *T. brochymenae* y *Gryon obesum* (Hymenoptera: Scelionidae) a partir de posturas de *P. guildinii*, aunque con baja frecuencia (Corrêa-Ferreira, 1993a).

En la tabla 2.6 se resumen los indicadores de parasitoidismo calculados para cada especie de parasitoide que atacó posturas de *P. guildinii*.

Tabla 2.6. Eficiencia en la detección de posturas (EDP), eficiencia del parasitoide (EP) e impacto del parasitismo (IP) de las especies de parasitoides que atacaron posturas de *P. guildinii* en las distintas temporadas, en soja y alfalfa.

especie de parasitoide	temporada	<i>Indicadores del impacto del parasitoidismo</i>					
		soja			alfalfa		
		EDP	EP	IP	EDP	EP	IP
<i>T. podisi</i>	2006-2007	0,189	0,759	0,149	-	-	-
	2007-2008	0,067	1	0,489	-	-	-
	2008-2009	0,044	0,536	0,027	0,053	0,607	0,046
	2009-2010	0,800	0,563	0,492	0,650	0,769	0,537
	2010-2011	0,333	0,702	0,261	0,307	0,456	0,248
<i>T. urichi</i>	2010-2011	0,039	0,061	0,022	0,267	0,336	0,183
<i>T. basalis</i>	2006-2007	0,027	0,135	0,027	-	-	-
	2008-2009	0,029	0,406	0,021	0,053	0,393	0,030
	2010-2011	0,039	0,072	0,027	-	-	-

Durante este estudio, de tres posturas de *P. guildinii* emergieron dos especies distintas de parasitoides de cada una de ellas. En uno de los casos emergieron individuos de *T. basalis* junto con *T. podisi*, mientras que en los otros dos emergieron avispas de *T. podisi* y de *T. urichi*. La Porta (2007) registró varias posturas de *P. guildinii*, *D. furcatus* y *E. mediatubunda* en cultivos de soja de la provincia de Córdoba a partir de las cuales emergieron dos especies de parasitoides, y una de ellas siempre fue *T. podisi*. Ribeiro y Castiglioni (2008) también encontraron una postura (de 285 posturas colectadas) de la que emergieron individuos de *T. basalis* y de *T. podisi*. Estos resultados sugieren que la emergencia de dos o más especies a partir de una misma postura no es común, aunque no es posible determinar si corresponde a una baja frecuencia de posturas parasitadas por dos especies o a fuertes interacciones competitivas. Esto será abordado en el Capítulo 4 de esta Tesis.

Con respecto al posible efecto del tamaño de la postura sobre el parasitoidismo, no se encontró relación lineal entre la proporción de huevos parasitados por *T. podisi* en la postura, y el tamaño de la misma ($r^2=0,041$; $F_{(1, 72)}=3,045$; $p<0,085$; $y=-0,647x+73,896$) (Figura 2.8).

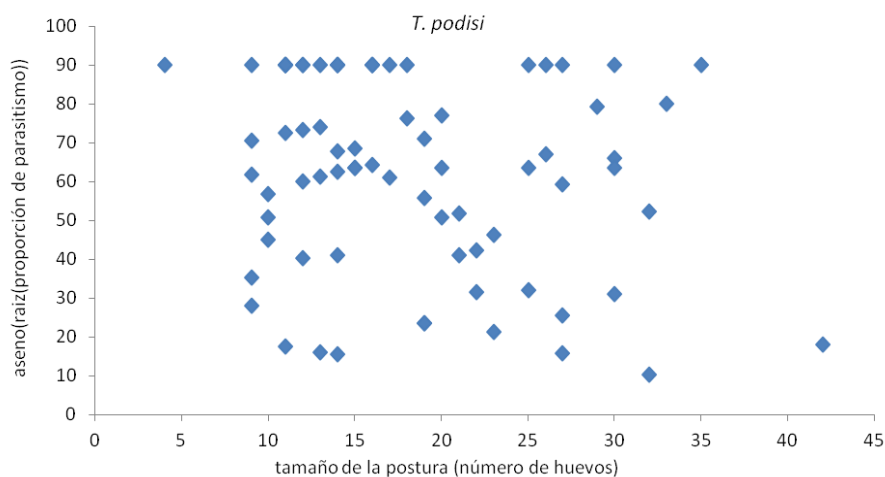


Figura 2.8. Proporción de parasitoidismo (número de huevos parasitados/número de huevos de la postura) por *T. podisi*, en función al tamaño de las posturas de *P. guildinii* colectadas en soja y alfalfa en las distintas temporadas estudiadas.

Considerando el parasitoidismo de huevos de *P. guildinii* por *T. urichi*, la regresión lineal entre la proporción de huevos parasitados/postura y el tamaño de la misma tampoco fue significativa ($r^2=0,001$; $F_{(1, 21)}= 0,004$; $p< 0,947$; $y=-0,073x+52,500$) (Figura 2.9).

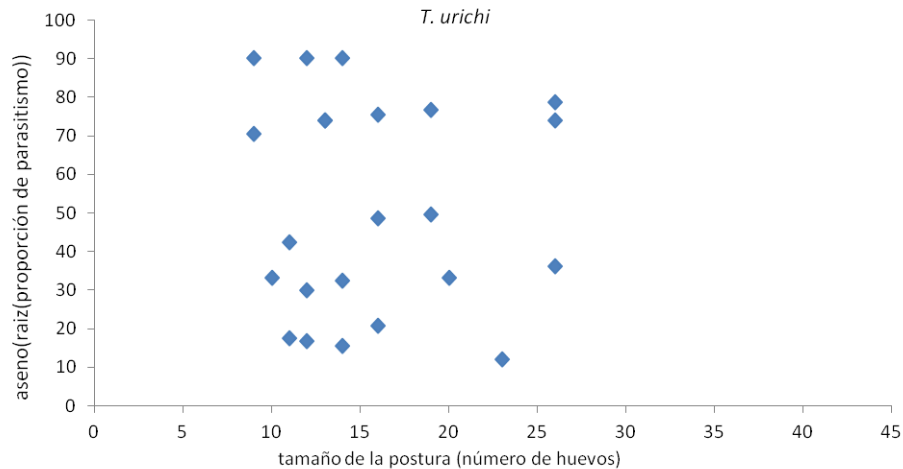


Figura 2.9. Proporción de parasitoidismo (número de huevos parasitados/número de huevos de la postura) por *T. urichi*, en función al tamaño de las posturas de *P. guildinii* colectadas en soja y alfalfa en la temporada 2010-2011.

El ataque de los parasitoides no sería densodependiente a la escala espacial analizada, es decir a nivel de la postura. Es importante destacar que en un 38,41% de las posturas de las que emergieron parasitoides también se observó emergencia de ninfas. Muchos autores han remarcado la explotación incompleta de los parches de hospedador por parte de varias especies de parasitoides en general, tanto a campo como en laboratorio (Cronin & Strong, 1993; Mackauer & Völkl, 1993; Outreman et al., 2001). Diversas hipótesis han surgido con el fin de explicar este comportamiento (Rosenheim & Mangel, 1994). El abandono del parche cuando aún quedan unidades del hospedador sin explotar podría deberse a que el parasitoide estaría evitando el auto-superparasitoidismo (especialmente cuando la discriminación entre hospedadores no parasitados y hospedadores ya parasitados es imperfecta), a que existe una alta disponibilidad de hospedadores sanos en el hábitat, a limitación en la carga de huevos del parasitoide, ó a interferencia entre las hembras. Otros autores sugieren que este comportamiento es una estrategia del parasitoide para minimizar los riesgos que corre su progenie al ataque de depredadores e hiperparasitoides (Cronin & Strong, 1993; Strong, 1989). La limitación en la carga de huevos no sería importante en este caso, ya que la fecundidad (número de huevos/hembra) de las especies que parasitaron a *P. guildinii* es alta (entre 76 y 211 huevos/hembra para *T. podisi*; 75 huevos/hembra para *T. urichi*; 300 huevos/hembra para *T. basalis* (Awan et al.,

1990; Laumann et al., 2008; Pacheco & Corrêa-Ferreira, 1998;) en relación al tamaño promedio de la postura de esta “chinche” (15 huevos/postura).

La depredación detectada en las posturas de *P. guildinii* fue baja en soja y en alfalfa, el 1,02% y 3,51% de las posturas, respectivamente. En trébol rojo, en cambio, la depredación de posturas por insectos masticadores fue muy importante. Se colectaron restos de aproximadamente 33 posturas con signos de depredación por insectos masticadores, las cuales no pudieron ser consideradas en la estimación del parasitoidismo dado que se encontraban muy destruidas. Considerando que se colectaron 21 posturas *P. guildinii* sanas en este cultivo a lo largo de las tres temporadas estudiadas, las posturas depredadas por insectos masticadores representaría más del 60% de las posturas reunidas. Durante el muestreo se observó la presencia de larvas y adultos de insectos de varias especies de depredadores (coccinélidos, crisópidos, formícidos). En este cultivo no se observó parasitoidismo, pero el mismo podría haber sido subestimado debido a la depredación intragremio coincidente, en el caso en que las posturas depredadas hubieran estado parasitadas. Este fenómeno ocurre cuando dos especies que comparten un hospedador o presa (y por lo tanto pueden competir) también están involucrados en una interacción trófica entre ellos (parasitoidismo o depredación) (Rosenheim et al., 1995).

CAPÍTULO 3

**Desempeño de los parasitoides oófagos sobre huevos
de *Piezodorus guildinii* y de *Nezara viridula* como
hospedador alternativo**

CAPÍTULO 3

Desempeño de los parasitoides oófagos sobre huevos de *Piezodorus guildinii* y de *Nezara viridula* como hospedador alternativo

Introducción

La gran diversidad de especies con estilos de vida parásita es un hecho muy conspicuo en la naturaleza (Henry et al., 2008). En particular, las avispas parasitoides representan entre el 10 y el 20% de todos los insectos (Godfray, 1994; Quicke, 1997; Whitfield, 2003). El principal factor que contribuyó a esta importante diversidad, a través de la diferenciación de poblaciones y la ulterior especiación, es la íntima relación establecida entre los parasitoides y sus hospedadores, y la selección disruptiva asociada. Dado que un solo genotipo no es uniformemente superior en todos los ambientes, la aparición de líneas localmente adaptadas puede conducir al desarrollo en diferentes hospedadores como estrategias alternativas estables (Falconer & Mackay, 1996).

Las características fisiológicas y de comportamiento que actúan en conjunto mediando la aceptación y el éxito reproductivo en un hospedador, juegan un papel muy importante en las relaciones parasitoide-hospedador (Henry et al., 2008). El rango de hospedadores de una especie de parasitoide está determinado en parte por la capacidad de búsqueda y de selección que poseen las hembras (Godfray, 1994; Vinson, 1998), así como por el éxito reproductivo y la supervivencia, como indicadores del desempeño, en función de la cantidad y calidad de la oferta de hospedadores (Hochberg & Ives, 2000; McNamara & Houston, 1992). Los estados particulares de la historia de vida del parasitoide, tales como la edad, el estado nutricional y la experiencia previa de oviposición también influyen en el desempeño del mismo (Lucchetta et al., 2007; McNamara & Houston, 1990; McNamara & Houston, 1992).

En el proceso de parasitoidismo, la calidad del hospedador influye sobre el desarrollo exitoso y la emergencia de las avispas. En algunos casos, la avispa hembra no es realmente capaz de parasitar los hospedadores que ha seleccionado, y en otros casos el parasitoidismo ocurre, pero la progenie no es capaz de desarrollarse en el hospedador

elegido. Un hospedador adecuado queda definido entonces como aquel en el cual el parasitoide puede producir progenie fértil (Salt, 1935).

En el estudio del desempeño de los parasitoides, la mayoría de los modelos de optimización se basan en el supuesto de que los organismos optimizan algunas características fisiológicas o de su comportamiento con el fin de maximizar su desempeño a lo largo de su vida. El desempeño, definido como la capacidad de un individuo de transmitir copias de sus genes a las generaciones futuras (Bolhuis & Giraldeau, 2005), es utilizado como una medida de éxito, y se espera que cualquier cambio en la morfología, fisiología o comportamiento de un animal que aumente esta capacidad sea seleccionado a favor. En los parasitoides, la expresión de comportamientos asociados con la localización de hospedadores y el parasitoidismo están directamente relacionados con una mejora en el desempeño, ya que encontrar y parasitar a un hospedador son procesos claves para asegurar la descendencia.

Los parasitoides muestran plasticidad fenotípica en sus elecciones de hospedador (Vos & Vet, 2004). La plasticidad fenotípica es la capacidad de un genotipo de producir fenotipos distintos adecuando su fisiología, morfología, o el desarrollo en respuesta a los cambios en el medio (Colinet et al., 2007; Pigliucci, 2001). El desempeño estará fuertemente influenciado por los factores que actúan sobre la plasticidad fenotípica. El tamaño de los parasitoides es una de las características morfológicas en las que más se evidencia dicha plasticidad, dado que varía en función de la especie de hospedador sobre la cual se desarrolla, el nivel de superparasitoidismo y la edad del hospedador, entre otras. La duración de los estados inmaduros, así como la fecundidad de los adultos, también pueden estar influenciadas por la especie de hospedador utilizado.

Todas estas variables deben ser tomadas en cuenta al momento de decidir cuáles características de la historia de vida serán relevantes para comparar el desempeño de un parasitoide sobre distintos hospedadores. Para ello, Roitberg et al. (2001) definieron diez características de la historia de vida importantes a tener en cuenta en el estudio del desempeño de los parasitoides, cinco de las cuales son consideradas especialmente para el caso de los parasitoides de huevos: el tamaño, la longevidad, la fecundidad, la habilidad de apareamiento y la capacidad de dispersión. El tamaño del parasitoide afecta a la mayoría de las otras características de la historia de vida, por lo cual no es un indicador directo del

desempeño. La longevidad es crucial, especialmente en referencia a la probabilidad de encuentro del hospedador. La fecundidad es quizás la característica más importante al estudiar el desempeño de las hembras de los parasitoides, así como la habilidad de apareamiento lo es respecto del desempeño de los machos. La capacidad de dispersión del parasitoide es particularmente importante cuando el hospedador es móvil, ya que la principal dificultad es encontrarlo. En las hembras, la capacidad de dispersión es particularmente importante en el proceso de búsqueda, como una medida de la capacidad de los parasitoides de encontrar y parasitar a los hospedadores. Por último, la tasa de desarrollo no sería una característica apropiada para comparar el desempeño de los parasitoides, debido a que el tiempo de desarrollo presenta baja variabilidad interespecífica entre los parasitoides de huevos (Doyon & Boivin, 2006), por lo cual este no sería un parámetro apropiado para comparar el desempeño en diferentes hospedadores, para este gremio.

Otra variable que podría estar mediada por la calidad del hospedador es la proporción de sexos de la progenie, la cual en los parasitoides cuyas poblaciones están constituidas por pequeños grupos de individuos relativamente aislados, está frecuentemente sesgada hacia las hembras. Según la teoría de la competencia local por pareja (“Local mate competition theory”) (Hamilton, 1967), una avispa madre debe dejar en su progenie una cantidad de machos tal que sea suficiente para fertilizar a todas las hembras. Estudios posteriores a los de Hamilton demostraron que la proporción de sexos prevista por la teoría de la competencia local por pareja puede verse alterada por diversos motivos. En función de la disponibilidad de los recursos, la hembra “invertirá” en el sexo que más se beneficie de esos recursos. Por ejemplo, el recurso disponible para la reproducción, representado por el hospedador, puede variar en tamaño. Según Charnov et al. (1981) las hembras se beneficiarán más que los machos al desarrollarse en hospedadores de mayor tamaño. Por lo tanto, la proporción de sexos de la progenie estaría influenciada por el tamaño del hospedador atacado.

Por otro lado, la especie y la edad de los hospedadores, independientemente del tamaño, son otros dos posibles componentes de la calidad del mismo que pueden influir en la proporción de sexos de la progenie (King, 1987), resultando también en desviaciones a la proporción propuesta por la teoría de la competencia local por pareja.

En relación a los estados particulares de la historia de vida del parasitoide, la edad de la hembra puede afectar negativamente la tasa de oviposición, la emergencia y la proporción de sexos de la descendencia (Powell & Shepard, 1982). Al respecto, Corrêa-Ferreira (1993) encontró que la proporción de hembras en la progenie de *T. basalis* parasitando huevos de *N. viridula*, disminuyó desde 0,94 para avispas madres de dos días de edad, hasta llegar a producirse más machos que hembras en la progenie de avispas madres de 10 días de edad. El incremento en la proporción de machos puede conducir a interferencia entre ellos y menor efectividad en la fecundación de las hembras, lo cual lleva a su vez a una mayor proporción de machos en la población, ya que se trata de especies arrenotóquicas, con hembras diploides y machos haploides.

Como fue presentado en la introducción general de esta Tesis, *Trissolcus basalis*, *Telenomus podisi* y *Trissolcus urichi* son parasitoides polífagos de huevos de “chinchas”, y las tres especies han sido citadas como parasitoides de *Nezara viridula* y de *Piezodorus guildinii* (Field et al., 1998; Johnson, 1985a; Johnson, 1985b; Johnson, 1987; Masner, 1976; Masner, 1980; Silva dos Santos, 2008). Ambos hospedadores coexisten en el cultivo de soja, y son recursos disponibles para los parasitoides (Liljesthröm & Coviella, 1999), si bien numerosos antecedentes indican a *N. viridula* como el principal hospedador de *T. basalis* (Clarke, 1990b; Corrêa-Ferreira & Zamataro, 1989b; Cumber, 1951; Ehler, 2002; Jones, 1988; Liljesthröm & Coviella, 1999; Orr, 1988) y a *P. guildinii* como hospedador de *T. podisi* y de *T. urichi* (Sujii et al. 2002).

En función de los antecedentes y los resultados obtenidos en el Capítulo 2 de esta Tesis, los cuales indican mayor parasitoidismo y emergencia de *T. podisi* y *T. urichi* sobre *P. guildinii*, se espera que el desempeño de *T. podisi* y de *T. urichi* en condiciones óptimas para las hembras sea mayor sobre *P. guildinii* y el de *T. basalis* sea mayor sobre *N. viridula*.

Objetivos:

- conocer el desempeño de los parasitoides *T. podisi*, *T. urichi* y *T. basalis* sobre *P. guildinii* y *N. viridula*.
- evaluar el efecto de la edad de la avispa madre, sobre el desempeño de *T. podisi*, *T. urichi* y *T. basalis* a partir de huevos de *P. guildinii*.

Materiales y métodos

Las colonias de “chinchas” y de avispas fueron establecidas a partir de individuos colectados en un cultivo de soja de la Estación Experimental Julio Hirschhorn de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la UNLP. Los adultos de *P. guildinii* y *N. viridula* fueron alimentados con vainas de poroto común (*Phaseolus vulgaris*), y mantenidos a $24\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ RH y 14h de fotofase. Posturas de cada especie fueron colectadas diariamente y utilizadas tanto para el sostenimiento de las colonias de parasitoides como para la realización de los experimentos.

Los parasitoides *T. podisi* y *T. urichi* fueron criados sobre huevos de *P. guildinii*, mientras que para *T. basalis* se utilizaron posturas de *N. viridula*. Se suministró miel diariamente como fuente de alimento para los adultos.

Se realizaron experimentos de no-elección, ofreciendo posturas de menos de 24h de desarrollo de *P. guildinii* o de *N. viridula* a hembras del parasitoide con 24 a 48h como adulto, copuladas, y sin experiencia de parasitoidismo previa. Se realizaron 82 réplicas de la combinación *T. podisi*-*P. guildinii* (en adelante “Tp-Pg”), 58 de *T. urichi*-*P. guildinii* (“Tu-Pg”), 35 de *T. basalis*-*N. viridula* (“Tb-Nv”), 26 de *T. podisi*-*N. viridula* (“Tp-Nv”), 16 de *T. urichi*-*N. viridula* (“Tu-Nv”), y 30 de *T. basalis*-*P. guildinii* (“Tb-Pg”). Las posturas y las avispas fueron mantenidas en tubos de ensayo, en las condiciones de laboratorio antes mencionadas. Luego de 72h las avispas fueron retiradas.

Para evaluar el efecto de la edad de la hembra, la unidad experimental consistió en una postura fresca de *P. guildinii* (24h de desarrollo) ofrecida a una hembra de *T. podisi*. Se utilizaron hembras de edades desde 2 hasta 10 días de emergidas. Se realizaron 8 réplicas para cada edad. Luego de observarse la cópula, las avispas hembras fueron reservadas con miel como fuente de alimento y sin posturas del hospedador, hasta alcanzar la edad requerida para hacer los experimentos. La alimentación de los adultos con miel es ampliamente utilizada en las crías de parasitoides himenópteros tanto para experimentación como para crías masivas. Además de cumplir con los requerimientos nutricionales y energéticos de las avispas (principalmente hidratos de carbono y otros compuestos orgánicos), es una fuente de alimento fácil de obtener y económica (Wäckers, 2003). Las

posturas estuvieron expuestas a los parasitoides por un lapso de 48h, y luego fueron mantenidas bajo condiciones controladas ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$; $70 \pm 5\%$ HR; 14h de fotofase). El mismo procedimiento fue realizado con hembras de *T. urichi* y de *T. basalis*. En el caso de *T. urichi* se utilizaron hembras de 3, 4 y 6 días de edad (8 réplicas para cada edad), y en el caso de *T. basalis* se utilizaron hembras de 2, 3, 4, 5, 6 y 8 días (10 réplicas para cada edad).

Se registró el número de ninfas, y el número y sexo de los parasitoides emergidos. Los huevos del hospedador de los que no se registró emergencia alguna fueron disecados para confirmar el parasitoidismo.

Los huevos fueron caracterizados como:

- huevos cerrados con ninfa muerta;
- huevos cerrados con pupa o adulto del parasitoide totalmente formado y muerto;
- huevos cerrados con contenido incierto.

Como fue mencionado en el Capítulo 2, los huevos cerrados con contenido incierto tuvieron en su interior una sustancia viscosa, amarillenta, que podría sugerir parasitoidismo no exitoso o alguna otra causa de mortalidad.

El número de huevos parasitados fue calculado como el número de huevos cerrados con pupa o adulto del parasitoide, más el número de huevos de los que emergieron parasitoides. Los huevos con contenido incierto no fueron considerados como parasitados.

Se calculó la proporción de parasitoidismo (número de huevos parasitados / número de huevos ofrecidos), la proporción de emergencia (número de avispas emergidas / número de huevos parasitados), y la proporción de hembras de la progenie (número de hembras / número total de descendientes adultos).

Las proporciones calculadas en cada tratamiento se compararon mediante ANOVA. En los casos en que los datos no presentaron normalidad ni homocedasticidad, los datos fueron transformados mediante la transformación angular (arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción). Cuando los supuestos del ANOVA no se cumplieron se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis.

Para las edades en las cuales se tuvieron datos tanto para *T. podisi* como para *T. urichi* y *T. basalis* (4 y 6 días), se realizó un ANOVA de dos vías para evaluar el efecto de la especie de parasitoide y de la edad del mismo, sobre las proporciones de parasitoidismo, de emergencia y de hembras en la progenie.

La proporción de parasitoidismo y de emergencia de avispas a partir de huevos de *P. guildinii* parasitados por hembras de *T. basalis* de distintas edades, fueron contrastadas con las proporciones registradas a partir de huevos de su hospedador preferido, *N. viridula* parasitados por avispas de 2 días, mediante ANOVA.

Resultados

Parasitoidismo causado por *Telenomus podisi*, *Trissolcus urichi* y *Trissolcus basalis* sobre huevos de *Piezodorus guildinii* y *Nezara viridula*

La proporción de parasitoidismo fue diferente entre las distintas interacciones parasitoide-hospedador ($H_{(5, N=247)}=128,815$; $p<0,001$), siendo alta en Tp-Pg, Tu-Pg y Tb-Nv y muy baja en Tp-Nv y Tu-Nv. *T. basalis* no parasitó los huevos de *P. guildinii* ofrecidos, si bien se registraron dos réplicas con algunos huevos con contenido incierto (2 huevos en una réplica y 4 en la otra) (Figura 3.1).

La proporción de emergencia de adultos de *T. podisi* y de *T. urichi* ocurrida en *P. guildinii* como hospedador fue del 99,73% y del 99,55% respectivamente. Si bien hubo formación de adultos de estas especies a partir de huevos parasitados de *N. viridula* (2 réplicas del primero y 3 réplicas del segundo), estas avispas no fueron capaces de emerger, es decir que los adultos murieron dentro del hospedador.

La proporción de emergencia de *T. basalis* sobre *N. viridula* fue del 92,72%, siendo significativamente menor al compararla con la de las avispas que nacieron de *P. guildinii* ($H_{(2, N=168)}=37,166$; $p<0,001$) (Figura 3.1).

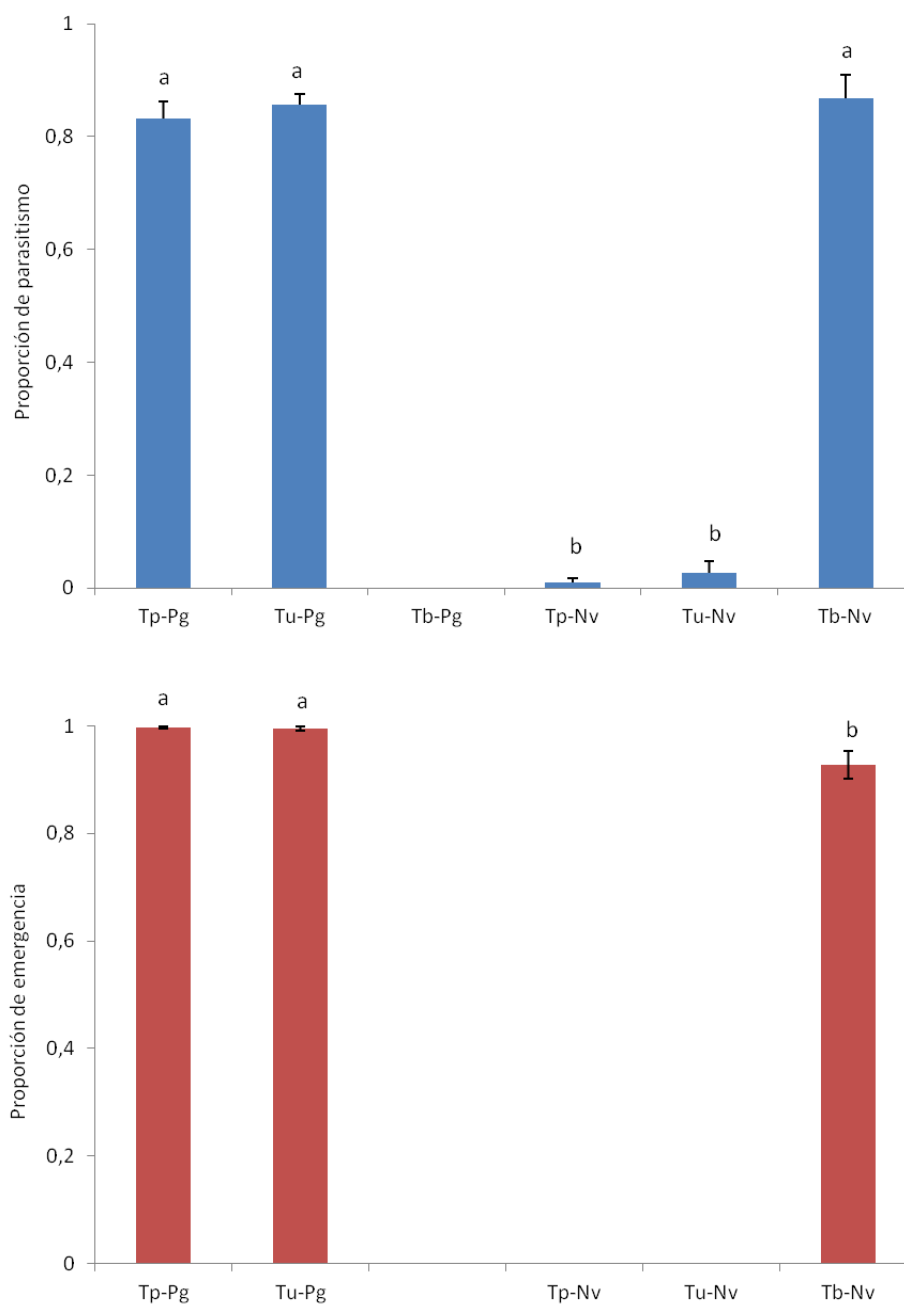


Figura 3.1. Proporción de parasitoidismo (número de huevos parasitados/número de huevos ofrecidos) (arriba) y proporción de emergencia (número de avispas emergidas/número de huevos parasitados) (abajo) en las distintas combinaciones parasitoide-hospedador. Las barras indican el intervalo de confianza al 95%. Tp: *T. podisi*; Tu: *T. urichi*; Tb: *T. basalis*; Pg: *P. guildinii*; Nv: *N. viridula*. Letras distintas indican diferencias significativas en la proporción de parasitoidismo, según Tukey ($p < 0,05$).

La proporción de hembras de la descendencia de *T. podisi* a partir de huevos de *P. guildinii* (0,899) fue significativamente menor a la registrada para *T. urichi* sobre huevos de esta especie de “chinche” (0,919), y que la registrada para *T. basalis* sobre huevos de *N. viridula* (0,919) ($F = 3,07$; $gl=2, 165$; $p=0,049$) (Figura 3.2).

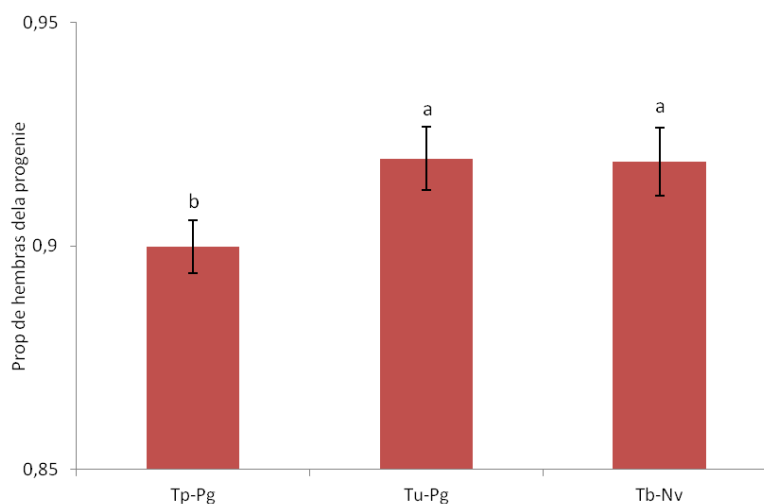


Figura 3.2. Proporción de hembras en la progenie de las distintas combinaciones parasitoide-hospedador. Las barras indican el intervalo de confianza al 95%. Tp: *T. podisi*; Pg: *P. guildinii*; Tu: *T. urichi*; Tb: *T. basalis*; Nv: *N. viridula*. Letras distintas indican diferencias significativamente según Fisher al 5% de probabilidad.

La proporción de sexos de la descendencia, en las otras combinaciones parasitoide-hospedador (Tb-Pg, Tp-Nv y Tu-Nv) no fue analizada debido a que no se obtuvo, o se obtuvo muy poca descendencia de cada especie en ambos hospedadores. *T. basalis* no parasitó a *P. guildinii* y en las replicas (posturas) de *N. viridula* parasitadas por *T. podisi* y por *T. urichi* (2 y 3 respectivamente) en las que hubo formación de avispas pero que no lograron emerger, se constató la presencia de una única hembra en cada caso.

Parasitoidismo causado por avispas de distintas edades

No se registraron diferencias significativas en la proporción de parasitoidismo de hembras de *T. podisi* de distintas edades sobre huevos frescos ($H_{(8, N=60)}=3,237$; $p=0,919$), ni en la proporción de emergencia de la progenie ($H_{(8, N=57)}=9,374$; $p=0,312$) (Figura3.3). La

proporción promedio de huevos parasitados por postura fue 0,690, emergiendo el 97,54% de las avispas formadas.

Tampoco se encontraron diferencias significativas en la proporción de parasitoidismo ($F=0,417$; $gl=2, 14$; $p=0,667$) ni en la de emergencia de la progenie ($F=0,02$; $gl=2, 14$; $p=0,978$), a partir de hembras de *T. urichi* de distintas edades (Figura 5.1). En este caso, la proporción promedio de huevos parasitados por postura fue 0,775, y se registró un alto porcentaje de emergencia de las avispas formadas (98,20%).

Al comparar la proporción de parasitoidismo en las edades 4 y 6 días, entre *T. podisi*, *T. urichi* y *T. basalis*, no se encontraron diferencias significativas entre las edades ($F=0,044$; $gl=1, 29$; $p=0,835$), ni entre especies ($F=0,807$; $gl=2, 29$; $p=0,455$). La interacción entre la especie de parasitoide y la edad de la hembra no fue significativa ($F=0,253$; $gl=2, 29$; $p=0,778$) (Figura 5.1). Si bien la proporción promedio de parasitoidismo de *T. basalis* fue alta, se registró un muy bajo número de posturas parasitadas por *T. basalis* de las dos edades comparadas. Tampoco se encontraron diferencias significativas en la proporción de emergencia de la progenie entre especies ($F= 0,43$; $gl=2, 29$; $p=0,654$), ni entre las edades ($F= 1,17$; $gl=1, 29$; $p=0,289$), y la interacción entre la especie de parasitoide y la edad de la hembra no fue significativa ($F=0,270$; $gl=2, 29$; $p=0,762$).

Las hembras de *T. basalis* de 2 y 3 días de edad no parasitaron a *P. guildinii*, emergiendo la totalidad de las ninfas. Si bien se registró parasitoidismo a partir de hembras de edades mayores, la proporción de posturas atacadas fue relativamente baja (54,54% de las réplicas para las hembras de 4 días, 20% de las réplicas para las hembras de 5 días, 30% de las réplicas para las hembras de 6 días, y 25% de las réplicas para las hembras de 8 días), al compararla con los resultados de *T. podisi* y *T. urichi* (ambas atacaron la totalidad de las posturas ofrecidas). La proporción de parasitoidismo de huevos de *P. guildinii* causada por hembras de *T. basalis* de 8 días de edad fue significativamente menor que la causada por hembras de 4, 5 y 6 días de edad sobre este hospedador, y que la causada por hembras de 2 días de edad al parasitar huevos de *N. viridula* ($F=12,116$; $gl=4, 41$; $p<0,001$). El mismo patrón se evidenció al comparar la proporción de emergencia de la progenie ($F=4,795$; $gl=4, 41$; $p=0,003$) (Figura 3.3).

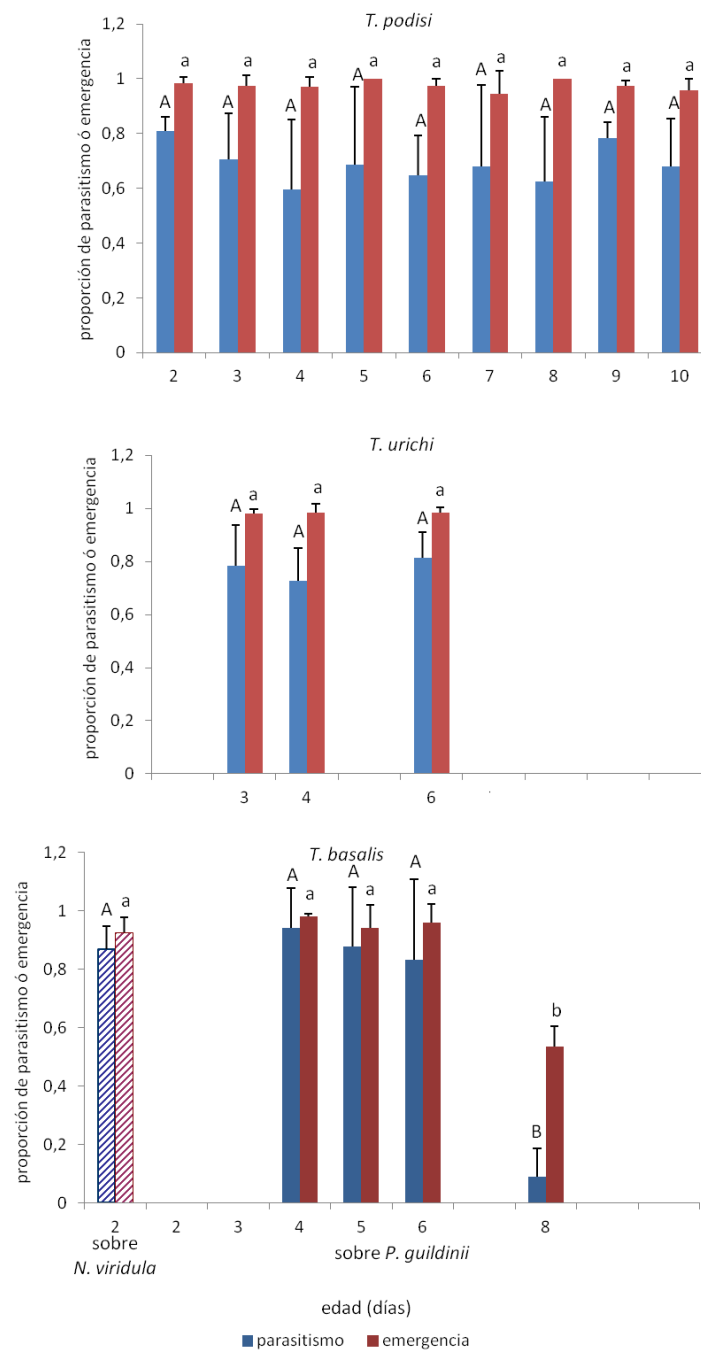


Figura 3.3. Proporción de parasitoidismo (número de huevos parasitados/número de huevos ofrecidos) y proporción de emergencia (número de avispas emergidas/número de huevos parasitados) a partir de huevos de *P. guildinii* parasitados por hembras de *T. podisi*, *T. urichi* y *T. basalis* de distintas edades (barras sólidas), y a partir de huevos de *N. viridula* parasitados por hembras de *T. basalis* de 2 días de edad (barras a rayas). Las barras indican el intervalo de confianza al 95%. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas en la emergencia ($p < 0,05$). Letras mayúsculas distintas indican diferencias significativas en el parasitoidismo ($p < 0,05$).

La proporción de hembras en la progenie de las avispas de *T. podisi* de 10 días fue significativamente menor que la de hembras de 4 días ($F=2,141$; $gl=8, 46$; $p=0,049$) (Figura 3.4).

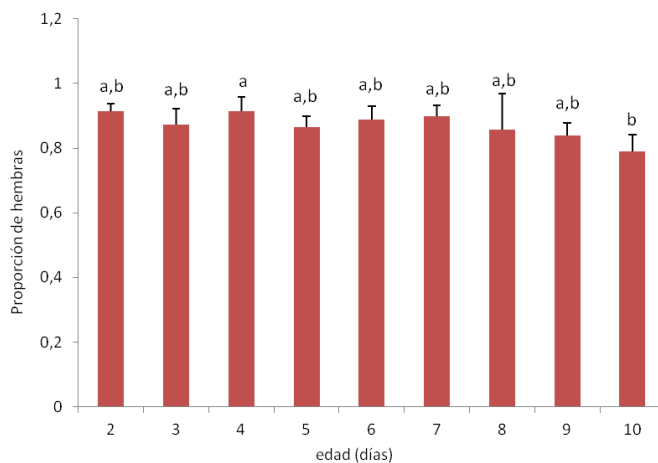


Figura 3.4. Proporción de hembras del parasitoide *T. podisi* emergidas a partir de huevos de *P. guildinii* parasitados por hembras de distintas edades. Las barras indican el intervalo de confianza al 95%. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Se encontró un patrón similar en la proporción de hembras en la progenie de *T. urichi*, siendo significativamente menor dicha proporción en la progenie de hembras de 6 días ($F=6,174$; $gl=2, 14$; $p=0,012$) (Figura 3.5).

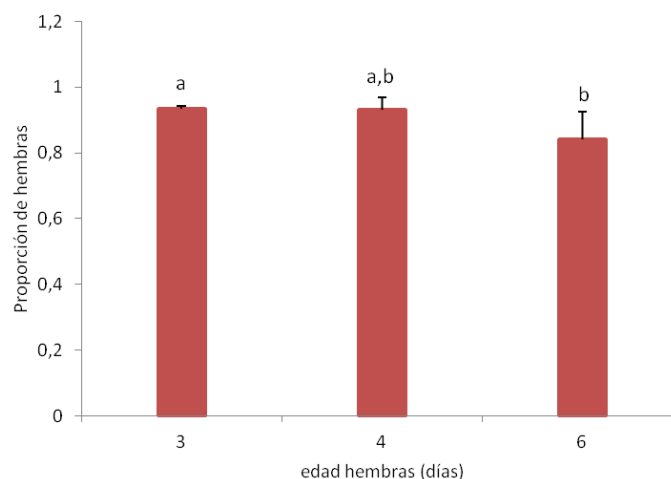


Figura 3.5. Proporción de hembras del parasitoide *T. urichi* emergidas a partir de huevos de *P. guildinii* parasitados por hembras de distintas edades. Las barras indican el intervalo de confianza al 95%. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Para el análisis de la proporción de sexos de la descendencia de *T. basalis*, no se consideraron las dos réplicas del tratamiento de avispas de 8 días de edad en las que se registró emergencia de adultos, ya que sólo emergieron 1 y 4 individuos, y todos ellos fueron hembras. No se encontraron diferencias significativas en la proporción de hembras en la progenie de avispas de distintas edades ($F=0,388$; $gl=2, 8$; $p=0,691$) (Figura 3.6).

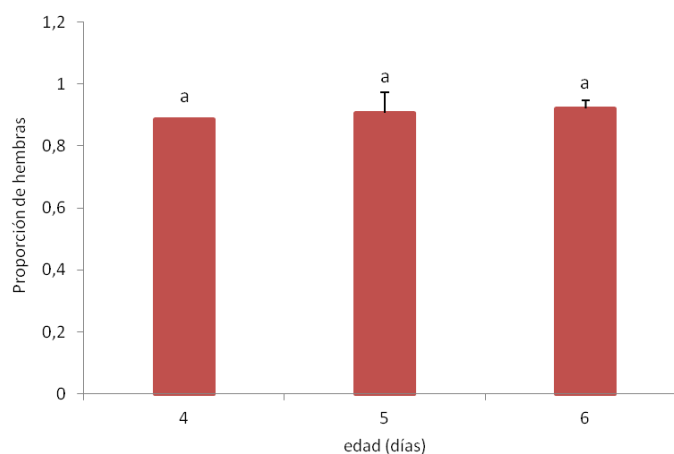


Figura 3.6. Proporción de hembras del parasitoide *T. basalis* emergidas a partir de huevos de *P. guildinii* parasitados por hembras de distintas edades. Las barras indican el intervalo de confianza al 95%. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

No se encontraron diferencias significativas en la proporción de hembras al comparar la progenie de *T. podisi*, de *T. urichi* y de *T. basalis* ($F= 0,297$; $gl=2$, 29; $p=0,745$), en las distintas edades en que dicha comparación fue posible ($F=1,790$; $gl=1$, 29; $p=0,191$) (Figura 3.7). La interacción entre la especie de parasitoide y la edad de la hembra no fue significativa ($F= 2,695$; $gl=2$, 29; $p=0,084$).

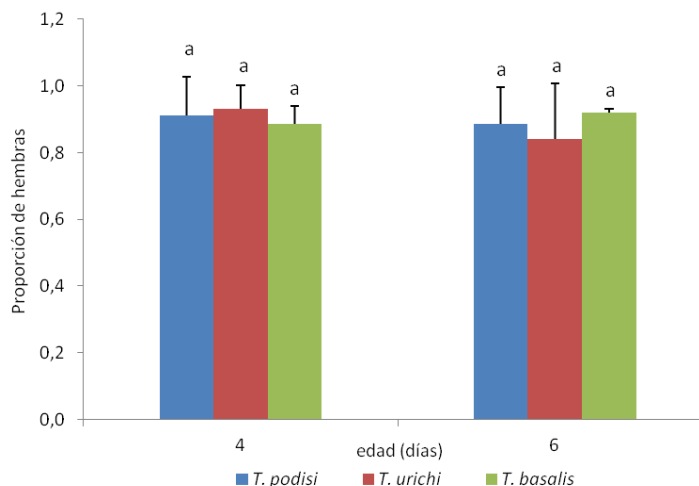


Figura 3.7. Proporción de hembras emergidas a partir de huevos de *P. guildinii* parasitados por hembras de *T. podisi* y de *T. urichi* de distintas edades. Las barras indican el intervalo de confianza al 95%. Letras distintas indican diferencias significativas.

Discusión

Los indicadores de desempeño analizados indican que para *T. podisi* y *T. urichi* el hospedador más adecuado fue *P. guildinii*, ya que la proporción de parasitismo y la proporción de emergencia de estas avispa sobre huevos del otro hospedador, *N. viridula*, fueron muy bajas. Por su parte, los mismos indicadores sugieren que para *T. basalis* el hospedador más adecuado fue *N. viridula*. Varios autores han investigado el desempeño, en condiciones de laboratorio, de diversos sceliónidos polífagos sobre distintos hospedadores (Catalán & Verdú Gallardo, 2005; Cividanes & Figueiredo, 1996b; Corrêa-Ferreira & Zamataro, 1989b; Cusumano et al., 2011; Kivan & Kilic, 2002; Kivan & Kilic, 2004; Kivan

& Kilic, 2006; Laumann et al., 2008; Laumann et al., 2010; Pacheco & Corrêa-Ferreira, 1998; Sujii et al., 2002), si bien en muy pocos de estos trabajos se estudia a *P. guildinii* como hospedador. En relación a *T. podisi*, Pacheco & Corrêa-Ferreira (1998) indicaron una proporción de parasitoidismo de huevos de *P. guildinii* de 70%. Para el caso de *T. urichi* sobre *P. guildinii*, Sujii et al. (2002) obtuvieron porcentajes muy bajos (12%), inferiores a los encontrados en el presente estudio.

Los porcentajes de emergencia de *T. basalis* sobre *N. viridula* obtenidos en este trabajo concuerdan con los encontrados por varios autores (Corrêa-Ferreira & Moscardi, 1995; Peres & Corrêa-Ferreira, 2004; Powell & Shepard, 1982). Sin embargo, Sujii et al. (2002) observaron porcentajes de emergencia muy inferiores (44%) para esta combinación de parasitoide-hospedador en ensayos de no-elección. Utilizando ensayos de elección múltiple, los mismos autores obtuvieron un 86% de emergencia de avispas, el cual es aún algo inferior al encontrado en este estudio.

A continuación se discuten las interacciones en las que el desempeño de los parasitoides fue bajo.

El parasitoidismo de huevos de *N. viridula* por *T. podisi* y *T. urichi* alcanzó valores muy bajos y similares a los registrados por Pacheco & Corrêa-Ferreira (1998). Los individuos que alcanzaron el estado adulto fueron incapaces de emerger. Esto concuerda con los resultados experimentales de Sujii et al. (2002) y los de Pacheco & Corrêa-Ferreira (1998), y los datos de campo de Corrêa-Ferreira & Moscardi (1995), quienes encontraron avispas adultas totalmente desarrolladas pero no emergidas, muertas dentro del huevo de la “chinche”. De hecho, Pacheco & Corrêa-Ferreira (1998) plantearon la imposibilidad de evaluar la fertilidad y la proporción de sexos de la progenie de *T. podisi* a partir de huevos de *N. viridula*, debido a su escaso desarrollo en este hospedador. Las diferencias en el grosor o en la dureza del corion del huevo de las distintas especies de “chinches” podrían influir en la emergencia de los parasitoides, al dificultar el proceso mediante el cual las avispas adultas cortan el huevo del hospedador para salir del mismo (Kivan & Kilic, 2002). En el caso de las especies de “chinches” evaluadas en este trabajo, se apreció una mayor resistencia del corion de los huevos de *N. viridula* respecto de los de *P. guildinii* durante el proceso de disección.

En cuanto al parasitoidismo de posturas de *N. viridula* por *T. podisi* a campo, Corrêa-Ferreira (1993) y Ehler (2002) encontraron muy bajos porcentajes, 0,2% en Brasil y 0,1% en California, respectivamente. En el caso de *T. urichi* son muy pocos los registros de ocurrencia de este parasitoide sobre *N. viridula* (Corrêa-Ferreira & Moscardi, 1995).

Así mismo, no se registró formación de avispas de *T. basalis* a partir de huevos de *P. guildinii*, si bien en unos pocos casos se evidenciaron huevos de este hospedador (2 huevos en una réplica y 4 en otra) que presentaban un contenido incierto, sugiriendo parasitoidismo no exitoso. De acuerdo a Ganesalingam (1966) las hembras de *T. basalis* pueden matar a los embriones de *N. viridula* en la acción de introducir su ovipositor en el huevo del hospedador aún sin oviponer, resultando en hospedadores muertos, con un contenido incierto similar al hallado en este trabajo.

En contraposición con los resultados de este estudio, Sujii et al. (2002) reportaron un 36% emergencia de *T. basalis* a partir de posturas de *P. guildinii* en los ensayos de no-elección, si bien no registraron emergencia de avispas a partir de esta combinación parasitoide-hospedador en los ensayos de elección-múltiple. Esto podría deberse a que los ensayos de no-elección en algunas ocasiones sobreestiman los rangos de hospedadores de los insectos, ya que ellos pueden atacar hospedadores no adecuados como consecuencia de cambios de comportamiento determinados por las condiciones de laboratorio (aislamiento, privación de hospedadores, etc.) (Godfray, 1994; Sands & Papacek, 1993; Strand & Obrycki, 1996; van Lenteren et al., 2006).

A su vez, distintos autores registraron parasitoidismo a campo de *T. basalis* sobre *P. guildinii*, tales como Corrêa-Ferreira & Moscardi (1995) quienes indicaron un porcentaje de parasitoidismo promedio de 44% para esta combinación parasitoide-hospedador. Ellos argumentaron que el parasitoidismo de posturas de *P. guildinii* por *T. basalis* en el norte del estado de Paraná, Brasil, se ha ido incrementando progresivamente (desde un 7,7% en 1986), aparentemente como resultado de las frecuentes liberaciones de este parasitoide en dicha región (Corrêa-Ferreira, 1993b). En Uruguay en cambio, donde no se realizaron liberaciones aumentativas, Ribeiro & Castiglioni (2008) obtuvieron un solo individuo de *T. basalis* a partir de las 1.388 posturas de *P. guildinii* parasitadas, colectadas a campo. En el presente estudio se registró esta interacción a campo aunque con muy baja frecuencia (Capítulo 2).

Las discrepancias entre resultados de campo y de laboratorio podrían explicarse analizando las condiciones en ambas situaciones. Los ensayos de no-elección son usados frecuentemente para identificar especies no hospedadoras debido a la robustez del método, ya que la probabilidad de obtener falsos negativos es baja (van Driesche & Murray, 2004). Al utilizar hembras jóvenes (con 1 a 2 días de emergidas), con una alta carga de huevos, sin experiencia previa de oviposición, y sin contacto previo con huevos de ninguna especie de potencial hospedador, se estima que se logra la máxima motivación o tendencia a oviponer, por lo tanto si no se registra parasitoidismo la especie se considera no hospedadora. Sin embargo, si el tiempo de privación de hospedadores fuera largo, el parasitoide podría igualmente parasitar un hospedador no adecuado (Logarzo et al., 2011), con las consiguientes consecuencias negativas en su desempeño. En las condiciones de este estudio, podría decirse que el tiempo de privación de hospedadores no fue suficientemente grande como para inducir el parasitoidismo de *T. basalis* sobre huevos de *P. guildinii*, un hospedador no preferido pero sobre el cual se ha registrado al menos un bajo porcentaje de parasitoidismo a campo (Capítulo 2).

Los resultados obtenidos a partir de estos estudios indican que *P. guildinii* no sería un hospedador adecuado para *T. basalis*, ya que las hembras jóvenes no parasitaron huevos de esta “chinche”. Si bien se conoce que el principal hospedador de *T. basalis* es *N. viridula*, bajo ciertas circunstancias (baja densidad del hospedador preferido, alta carga de huevos y baja expectativa de vida) esta avispa puede incluir a *P. guildinii* como hospedador secundario.

La alta proporción de hembras de la descendencia de las tres especies de parasitoides sobre los hospedadores en los que su desempeño fue mayor, sería un indicador más de la apropiada calidad del hospedador. En el caso de las avispas emergidas a partir de *P. guildinii*, la mayor proporción de hembras en la descendencia de *T. urichi* en relación a la de *T. podisi*, podría deberse a una capacidad de apareamiento superior en los machos de la primera especie.

Pacheco & Corrêa-Ferreira (1998) encontraron una proporción de hembras de *T. podisi* desarrolladas a partir de *P. guildinii* (0,73) algo menor a la de este estudio, probablemente debido a diferencias entre líneas genéticas. Powell & Shepard (1982) encontraron diferencias en la proporción de sexos de la progenie de *T. basalis* provenientes

de diferentes regiones de Australia y de Florida, al parasitar posturas de *N. viridula*. Por otra parte, estudios de laboratorio demostraron que *T. basalis* produce mayor proporción de hembras a medida que ataca posturas de *N. viridula* de mayor tamaño (Colazza et al., 1991), lo cual está de acuerdo con las predicciones de la teoría de competencia local por pareja, que indica que los parasitoides optimizan el número de machos producidos en la progenie que asegure la fecundación de todas sus hermanas. El efecto del tamaño de las posturas ofrecidas (15 y 50 huevos en promedio para *P. guildinii* y *N. viridula* respectivamente) sobre la proporción de sexos de la progenie no pudo ser evaluado en el presente estudio, ya que no se obtuvo progenie de ninguna de las tres especies de parasitoides a partir de ambos hospedadores, lo cual hubiera permitido hacer la comparación. Esto tampoco permitió evaluar el posible efecto de la calidad del hospedador sobre la proporción de sexos de la progenie, según indica la teoría de asignación de sexos de la progenie (“*Offspring sex allocation theory*”) (Godfray, 1994). Esta teoría predice que un mayor número de huevos fertilizados, que darán origen a progenie hembra, serán depositados en los hospedadores de calidad superior, presumiendo que sobre estos hospedadores la hembra es capaz de alcanzar un tamaño corporal más grande, que resultará en mayores cargas de huevos y una mayor longevidad.

En relación al efecto de la edad de la hembra al parasitar, no se encontraron diferencias significativas en las proporciones de parasitoidismo ni de emergencia entre hembras de distintas edades de *T. podisi* ni de *T. urichi*. Respecto de *T. podisi*, esto indicaría que durante el lapso evaluado (hasta 10 días desde la emergencia del adulto) la capacidad reproductiva de estas avispas no se ve afectada. Pacheco & Corrêa-Ferreira (1998) encontraron que la mayor fecundidad de avispas de *T. podisi* a las cuales les ofrecieron huevos de *P. guildinii ad-libitum* durante 17 días, ocurrió en sus primeros 10 días de vida, y la longevidad de estas hembras fue de 20 días. El período de tiempo durante el cual se evaluó la respuesta a la privación de hospedadores en este estudio probablemente no fue suficiente para reflejar un posible efecto negativo de la edad sobre la fecundidad.

Al analizar la progenie de avispas de *T. podisi* y *T. urichi* de distintas edades, se evidenció una tendencia hacia la producción de una mayor proporción de machos a medida que aumentó la edad de la madre. Pacheco & Corrêa-Ferreira (1998) también encontraron tal tendencia en la progenie de *T. podisi* sobre huevos de *P. guildinii*, a medida que las

avispa madre envejecieron (desde 1 a 17 días de vida). La cantidad y calidad del esperma durante el almacenamiento en la espermateca de las hembras, son las principales limitaciones que influyen sobre la proporción de sexos en la progenie de avispas arrenotóquicas (Damien et al., 2003). La calidad del esperma se deteriora con el tiempo (Reinhardt et al., 1999), lo cual conlleva a una disminución en la capacidad de fertilización en hembras de mayor edad, aumentando la proporción de individuos haploides, es decir machos, en su progenie. Otro mecanismo que conduce al aumento de esta proporción es el superparasitoidismo (Charnov, 1982). En el caso de los experimentos realizados en este estudio se trataría de auto-superparasitoidismo, lo cual es muy infrecuente. El auto-superparasitoidismo sería beneficioso principalmente para parasitoides larvales al saturar la respuesta inmune del hospedador, que consiste en el encapsulamiento de los huevos o larvas del parasitoide por medio de la adhesión de los hemocitos del hospedador a la superficie del mismo, impidiéndole la alimentación y el intercambio de gases (Godfray, 1994). Debido a que los huevos de los hospedadores de los parasitoides oófagos no poseen sistema inmune (Hawkins & Sheehan, 1994), este proceso no se produce.

El aumento en la proporción de machos de la progenie de las avispas de mayor edad está documentado para varias especies de sceliónidos (Corrêa-Ferreira, 1993a; Corrêa-Ferreira & Zamataro, 1989a; Pacheco & Corrêa-Ferreira, 1998; Yeorgan, 1982). Este fenómeno podría influir negativamente en el sostenimiento de grandes colonias de los parasitoides, ya que en dichas crías el proceso de replicación continuo requerido, conduce a la utilización simultánea de hembras de varias edades. Con el fin de evitar este efecto negativo, en las crías masivas es común la utilización de recipientes de gran tamaño en los que se coloca una importante cantidad de huevos del hospedador junto con huevos ya parasitados, próximos a emerger. Mediante este procedimiento se asegura la utilización de hembras jóvenes, evitando el aumento de la proporción de machos en la cría (Paes Bueno, 2009).

Si bien las hembras jóvenes de *T. basalis* no parasitaron huevos de *P. guildinii*, ya que esta “chinche” no sería su hospedador preferido, la ausencia de hospedadores adecuados a medida que la hembra envejecía habría influido en su decisión de parasitar a ese hospedador. Se conoce que con la disminución de la expectativa de vida de la avispa, su selectividad disminuye, bajando el umbral de calidad por debajo del cual los hospedadores

son rechazados, de acuerdo al balance entre distintos atributos, propuesto por la teoría del ciclo vital (Rosenheim, 1999).

Por otro lado, si bien las hembras de *T. basalis* de mayor edad parasitaron a *P. guildinii*, la proporción de parasitoidismo decayó significativamente con la edad de la avispa madre. Esto podría deberse a que el parasitoide reabsorba sus huevos. La reabsorción de huevos es una estrategia adaptativa que permite a las hembras conservar los recursos metabólicos en situaciones en las cuales las condiciones son desfavorables (Bell & Bohm, 1975). De este modo, la avispa puede redistribuir los nutrientes desde los huevos hacia los tejidos somáticos en situaciones de escasez de hospedadores (Papaj, 2000). Chabi-olaye et al. (2001) encontraron que la fecundidad de las hembras de *Telenomus isis* disminuyó a la mitad luego de 17 días de privación de hospedadores, y los autores lo atribuyen a la reabsorción de huevos por parte de la avispa. Jervis et al. (2001) afirman que la reabsorción de huevos ocurre principalmente en especies sinovigénicas. Según la clasificación que estos autores proponen, y los resultados obtenidos por Field et al. (1998), *T. basalis* sería una especie levemente sinovigénica, ya que emerge con un importante complemento de huevos ya maduros pero también tiene la capacidad de madurar más huevos luego. Bajo este criterio, dicho proceso también podría haber ocurrido en las otras dos especies de parasitoide evaluadas, sin embargo no se observó una disminución en la proporción de parasitoidismo de esas avispas al envejecer.

Otra posible explicación a la menor proporción de parasitoidismo observada a medida que las hembras de *T. basalis* envejecieron, sería la falta de estímulo de oviposición mediado por la presencia de un hospedador adecuado. Papaj (2000) propone que el comportamiento de oviposición de los parasitoides responde a variaciones en la disponibilidad y la calidad de hospedadores, así como al estado fisiológico del parasitoide (Wang & Messing, 2003).

Respecto de la proporción de hembras, no se encontraron diferencias significativas en la progenie de avispas madres de *T. basalis* de distintas edades. Estos resultados sugieren que durante el lapso estudiado (8 días desde la emergencia de la avispa) la cantidad y la calidad del esperma no se vieron afectadas negativamente. Considerando que esta especie tiene una longevidad de hasta 25 días oviponiendo *ad-libitum* y hasta 50 días si no lo hace (Corrêa-Ferreira, 1993), los 8 días evaluados en este estudio no representarían un

lapso suficientemente largo como para reflejar un efecto de la edad de la madre sobre la proporción de sexos de su progenie. Cabe mencionar que *T. podisi*, para la cual si se observó este efecto, posee una longevidad menor.

Por otra parte, Roitberg et al. (2001) consideraron que la proporción de sexos es una característica relevante en el desempeño de los parasitoides, cuando se utiliza junto con la fecundidad realizada (número de huevos puestos durante toda la vida), pero no tiene valor como una medida absoluta.

Un aspecto importante en el marco del control biológico de plagas, es que el impacto de un parasitoide sobre las poblaciones de las mismas puede ser potenciado por la disponibilidad de hospedadores alternativos en los cultivos o zonas aledañas, especialmente en períodos de escasez de hospedadores (Powell, 1986). La utilización de hospedadores alternativos puede ayudar a mejorar la sincronía entre los parasitoides y sus hospedadores, mejorar la distribución de los parasitoides, y reducir la competencia intraespecífica (van den Bosch & Telford, 1964). Al respecto, el desarrollo de estrategias que conducen a que el individuo actúe como especialista o generalista está mediada no sólo por los mecanismos que generan variación genética, sino también por la forma en que éstos interactúan con los diferentes factores que son específicos de cada ambiente, tanto a una escala espacial como temporal (Henry et al., 2008).

CAPÍTULO 4

**Multiparasitoidismo de huevos de *Piezodorus guildinii*
por *Telenomus podisi* y *Trissolcus urichi***

CAPÍTULO 4

Multiparasitoidismo de huevos de *Piezodorus guildinii* por *Telenomus podisi* y *Trissolcus urichi*

Introducción

El multiparasitoidismo ocurre cuando un parasitoide coloca un huevo en un hospedador que ya posee uno o más huevos de otra especie de parasitoide, debido a un evento previo de parasitoidismo. Esta interacción se diferencia del superparasitoidismo, ya que en esta última el hospedador es parasitado más de una vez, pero por individuos de la misma especie.

La decisión de superparasitar ó multiparasitar implica un riesgo para el parasitoide, ya que su descendencia será forzada a una competencia que puede ser letal. Sin embargo, algunas evidencias indican que estas estrategias podrían ser ventajosas, para el individuo ó para la especie, en determinadas circunstancias. El superparasitoidismo puede ser ventajoso si la tasa de encuentro de hospedadores no parasitados es baja, si las hembras de los parasitoides tienen baja expectativa de vida, si poseen una alta carga de huevos, y si más de una hembra está buscando hospedadores dentro del mismo parche (Quicke, 1997). También puede ser beneficioso, en el caso de los parasitoides larvales, cuando los hospedadores son capaces de encapsular y eliminar algunas de las larvas del parasitoide, reduciendo la eficacia de la respuesta inmune del hospedador, lo cual permite el éxito de las restantes larvas (Askew, 1968; Bakker et al., 1985; Puttler, 1974). Este mecanismo no concierne a los parasitoides oófagos, ya que los huevos de su hospedador no poseen sistema inmune (Hawkins & Sheehan, 1994).

El multiparasitoidismo, por su parte, también sería la mejor estrategia cuando los hospedadores son escasos y la carga de huevos del parasitoide es alta (Bakker et al., 1985). Turlings et al. (1985) observaron que los parasitoides *Leptopilina heterotoma* (Hymenoptera: Figitidae) y *Asobara tabida* (Hymenoptera: Braconidae) evitaron el

superparasitoidismo pero no el multiparasitoidismo, y demostraron que si las avispas competidoras llevan una amplia carga de huevos, evitar el multiparasitoidismo no implica una ventaja para estos parasitoides.

De todos modos, el multiparasitoidismo no deja de implicar la competencia interespecífica entre los estados inmaduros de los parasitoides que se están desarrollando dentro de un mismo hospedador (Zwölfer, 1971). La competencia se considera un fenómeno más importante en las comunidades de parasitoides que en las de otros niveles tróficos, ya que los hospedadores individuales constituyen una fuente de recursos pequeña, que en el caso de ser atacados por parasitoides solitarios, solo es suficiente para un individuo (Quicke, 1997). Esta competencia interespecífica puede darse mediante ataque físico o mediante supresión fisiológica por medio de toxinas, anoxia o falta de alimento (Godfray, 1994). Debido a que esta interacción ocurre dentro del hospedador, la existencia de multiparasitoidismo no puede determinarse solamente identificando las avispas que emergen, sino que es preciso conocer los eventos de oviposición que sucedieron en cada hospedador.

La competencia interespecífica entre parasitoides influye en la coexistencia de las especies y en la estructura de la comunidad (Godfray, 1994). La coexistencia se ve favorecida cuando la superposición de nichos es mínima. Okuda & Yeargan (1988a) observaron el parasitoidismo a campo de las especies simpátricas *Telenomus podisi* y *Trissolcus euschisti*, encontrando que la primera parasitó significativamente más posturas del hospedador en cultivos de alfafa (*Medicago sativa*), y la segunda solo parasitó las posturas en árboles de *Celtis occidentalis* presentes en zonas aledañas a dicho cultivo. Los autores sugieren que la coexistencia de ambas especies en los ambientes estudiados sería favorecida por la segregación de nichos.

Otra desventaja del multiparasitoidismo podría ser el aumento de la proporción de machos en la progenie, como ocurre en el superparasitoidismo (Field et al., 1997), en el caso en que la avispa que multiparasita distinga entre hospedadores no parasitados y hospedadores ya parasitados por otra especie. Este cambio en la proporción de sexos tiene consecuencias en la dinámica poblacional, ya que un aumento relativo de la cantidad de machos conduce a mayor competencia entre los mismos, interfiriendo en la fecundación de las hembras. Esto genera a su vez, en los parasitoides arrenotóquicos, una mayor

producción de machos en la siguiente generación, y así sucesivamente (Hassell et al., 1983).

Por las implicancias negativas del superparasitoidismo y del multiparasitoidismo, los parasitoides han desarrollado mecanismos para evitarlos. Existe evidencia de que las hembras adultas de esceliónidos muestran un comportamiento de defensa de la postura atacada, mediante un “patrullaje” que realizan permaneciendo sobre la postura que acaban de parasitar, observándose agresión física entre ellas. Field et al. (1998) encontraron que cuando más de una hembra de *T. basalis* se encuentra atacando una postura de *Agnoscelis rutila* a campo, se desencadena un comportamiento agonístico. Otro mecanismo para evitar estas interacciones negativas, sería el marcado del hospedador atacado, y la consiguiente capacidad de reconocer dichas marcas. Estas marcas servirían principalmente a nivel específico (Bakker et al., 1985), si bien algunos trabajos han reportado reconocimiento interespecífico de las marcas, principalmente entre especies emparentadas (Agboka et al., 2002; van Baaren et al., 1994; Vet et al., 1984; Weisser & Houston, 1993).

En los esceliónidos, el marcado es realizado por la hembra mediante el raspado del ovipositor sobre la superficie del huevo del hospedador que ha parasitado. En un estudio realizado con la especie *Telenomus sphingus* (Rabb & Bradley, 1970), el procedimiento de marcado fue realizado sobre el 77% de los huevos atacados, y solo el 15% de los huevos que no habían sido marcados estaban parasitados. Higuchi & Suzuki (1996) constataron que los huevos de *Piezodorus hybneri* sobre los que *Telenomus triptus* no había realizado el comportamiento de marcado, no habían sido parasitados.

En el caso de la competencia con ataque físico entre las larvas, se ha observado que el orden en el cual ocurre la oviposición y el intervalo de tiempo transcurrido entre oviposiciones es importante en el resultado de la competencia larval (Chow & Mackauer, 1984; Mackauer, 1990; Tillman & Powell, 1992). El primer estadio larval de los parasitoides de la familia Scelionidae es teleaforme, con largas mandíbulas que muchos autores sugieren que son usadas en la eliminación de competidores (Gerling, 1972; Schell, 1943; Volkoff & Colazza, 1992). Según estos antecedentes la especie que parasite primero tendrá más probabilidad de sobrevivir ya que su larva tendrá cierto grado de desarrollo al momento de producirse el multiparasitoidismo. Si el tiempo transcurrido entre una

oviposición y la otra es muy breve, sobrevivirá la especie que logre eliminar antes a su competidora dentro del hospedador.

La emergencia de varias avispa a partir de un único huevo del hospedado nunca ha sido registrada, ya que son solitarios. Sin embargo, la emergencia de varias especies de parasitoides a partir de una misma postura de pentatómido parasitada a campo, si bien es poco frecuente, ha sido registrada en varias ocasiones (Castiglioni et al., 2005; Corrêa-Ferreira, 1996; Molinari et al., 2008). Por ejemplo, se observó emergencia de *Trissolcus sp* y *Ooencyrtus sp* a partir de una misma postura de *N. viridula* (Buschman & Whitcomb, 1980; Corrêa-Ferreira & Moscardi, 1995; Ehler, 2002; Hoffmann et al., 1991; Shepard et al., 1994), y en el presente estudio, *T. basalis* y *T. podisi* a partir de una misma postura de *P. guildinii* (Capítulo 2 de esta Tesis).

Considerando la hipótesis de que las avispa jóvenes de *T. podisi* y de *T. urichi*, sin limitación en la carga de huevos, y en presencia de hospedadores no parasitados, evitan el multiparasitoidismo, se espera encontrar que parasiten en mayor proporción a los huevos no parasitados que a los huevos previamente parasitados por la otra especie.

Otra hipótesis postula que la larva de la especie que tenga cierto grado de desarrollo al momento de producirse el multiparasitoidismo tiene mejores habilidades competitivas. Además, los machos de las avispa de la familia Scelionidae se desarrollan más rápidamente que las hembras, alcanzando mayor desarrollo en menor tiempo. Por lo tanto se espera encontrar que sobreviva en mayor proporción la especie que parasitó primero, y que a mayor tiempo transcurrido entre las oviposiciones de ambas especies, menor será la proporción de emergencia de la progenie del parasitoide que multiparasita. Además se espera que la progenie del parasitoide que multiparasita tenga una proporción de sexos sesgada hacia los machos.

Objetivos:

- evaluar si ambas especies de parasitoide evitan parasitar huevos de *P. guildinii* parasitados por la otra especie,
- evaluar el efecto del orden en la secuencia de oviposición sobre el resultado de la interacción,

- evaluar el efecto del tiempo transcurrido entre oviposiciones de una y otra especie de parasitoide sobre el resultado de la interacción,
- comparar la proporción de sexos de cada especie en la progenie desarrollada en huevos parasitados y huevos multiparasitados.

Materiales y métodos

La unidad experimental consistió en una postura fresca de *P. guildinii* de entre 10 y 15 huevos en una cápsula de Petri de 4 cm de diámetro, junto con un hembra de *T. podisi* con 24h como adulta, copulada y sin experiencia de oviposición previa.

La avispa fue retirada luego que parasitara aproximadamente la mitad de la postura y una hora después se introdujo una hembra de *T. urichi*, dejándola hasta que parasitara un número similar de huevos.

Todo el proceso de oviposición de ambas especies fue observado bajo lupa binocular. Se realizó un croquis de la postura para individualizar cada huevo y poder registrar el momento en que cada uno de ellos fue parasitado.

Los casos en que la primera o la segunda avispa no aceptaron la postura (no comenzaron a parasitar en un lapso de 5h), no fueron tomados en cuenta para los análisis.

El mismo procedimiento fue realizado utilizando primero una avispa de *T. urichi* y luego una de *T. podisi*. Se realizaron 10 réplicas exponiendo primero a *T. podisi* y luego a *T. urichi* (Tp+Tu), y 12 réplicas exponiendo primero a *T. urichi* y luego a *T. podisi* (Tu+Tp).

Las posturas fueron incubadas a $24\pm 1^{\circ}\text{C}$, $70\pm 10\%$ RH y 14h de fotofase hasta la emergencia de los parasitoides y/o los hospedadores. Para determinar cuál fue el resultado de la interacción, cada postura fue revisada a intervalos de tiempo lo más pequeños posible (entre 30 min y 7 h) desde que se registraba la emergencia del primer parasitoide hasta la emergencia del último. Los huevos parasitados de los cuales no se registró emergencia del parasitoide fueron disecados 5 días después del tiempo promedio de desarrollo preimaginal para la temperatura a la que se realizaron los experimentos (12 días). Se probó otro modo

de hacer el seguimiento de los huevos, utilizado por Field et al. (1997) en ensayos con *Agnoscelis rutila* (Hemiptera: Pentatomidae), que consiste en separarlos individualmente antes o después de exponerlos a los parasitoides, pero este procedimiento no resultó adecuado para la manipulación de huevos de *P. guildinii* ya que produjo alta mortalidad.

La selección del tipo de recurso para cada especie al parasitar en segundo orden, huevos no parasitados o huevos previamente parasitados por la otra especie, se estimó mediante la relación de forrajeo w_i (Cock, 1978):

$$\hat{w}_i = \frac{o_i}{p_i}$$

donde o_i es la proporción del recurso i utilizado, y p_i es la proporción del recurso i disponible.

En este caso, cuando *T. urichi* parasita en segundo orden, tiene dos tipos de recursos disponibles: huevos parasitados por *T. podisi* y huevos no parasitados. El índice propuesto estima la selección de uno u otro de los tipos de recurso, mediante la relación entre la proporción de huevos que *T. urichi* depositó sobre uno de los tipos de recurso mencionados dividido por la proporción que ese recurso representó en el total de los huevos ofrecidos.

Esto es:

$O_{\text{huevos no parasitados para } T. urichi}$ = número de huevos **no parasitados** por *T. podisi*, que son parasitados por *T. urichi*/número total de huevos parasitados por *T. urichi*,

$P_{\text{huevos no parasitados para } T. urichi}$ = número de huevos **no parasitados** por *T. podisi* ofrecidos/número total de huevos ofrecidos,

$O_{\text{huevos previamente parasitados para } T. urichi}$ = número de huevos **previamente parasitados** por *T. podisi*, que son parasitados por *T. urichi*/número total de huevos parasitados por *T. urichi*,

$P_{\text{huevos previamente parasitados para } T. urichi}$ = número de huevos **previamente parasitados** por *T. podisi* ofrecidos/número total de huevos ofrecidos.

Del mismo modo se calculó el índice, cuando *T. podisi* parasitó en segundo orden.

\hat{w}_i toma valores entre 0 e ∞ . Valores menores que 1 indican selección negativa (el recurso es evitado), 1 indica indiferencia, y valores mayores a 1 indican selección positiva (el recurso es preferido).

Para probar la hipótesis nula de que los parasitoides exhiben indiferencia por los distintos tipos de recursos ofrecidos (seleccionan el recurso al azar), se comparó el promedio de las relaciones de forrajeo con un valor único (1) (Sokal & Rohlf, 1995), mediante el test de t.

El número de *T. podisi* y *T. urichi* emergidos a partir de los huevos multiparasitados fue comparado mediante χ^2 para cada tratamiento. También se comparó la proporción de emergencia de cada especie a partir de los huevos multiparasitados, entre los tratamientos (proporción de emergencia de una especie dada cuando parasitó primero versus su proporción de emergencia cuando parasitó segunda) mediante la desviante normal (Sokal & Rohlf, 1995).

La proporción de individuos de cada especie emergidos a partir de los huevos multiparasitados también se comparó con la proporción de emergencia cuando la especie parasita huevos no parasitados por la otra especie (0,99 para ambas especies) (Capítulo 3), mediante la desviante normal (Sokal & Rohlf, 1995).

La proporción de hembras emergidas a partir de esos huevos, fue comparada con la proporción de hembras promedio encontrada para la especie cuando parasita huevos sin parasitar por la otra especie (0,900 para *T. podisi* y 0,919 para *T. urichi*) (Capítulo 3), mediante χ^2 .

Para evaluar el efecto del lapso transcurrido entre las oviposiciones sobre el resultado de la interacción, se subdividió dicho tiempo en 4 intervalos con igual número de avispa emergidas en cada uno de ellos. El número esperado de individuos de cada especie, emergidos a partir de los huevos multiparasitados en cada intervalo, si la emergencia ocurriera independientemente del tiempo transcurrido entre oviposiciones, fue estimado como: número total de individuos de la especie emergidos / 4.

Los números observados y esperados de individuos emergidos en cada intervalo fueron comparados mediante Tablas de contingencia.

Resultados

Parasitoidismo por *T. podisi* seguido de parasitoidismo por *T. urichi* (Tp+Tu)

Los índices de selección de huevos no parasitados y previamente parasitados por *T. podisi* ($w_{no\ parasitados}=0,908$ y $w_{parasitados}=1,079$) no fueron significativamente distintos de 1 ($p=0,1144$ y $p=0,080$), lo cual indica que la distribución de los ataques de *T. urichi* entre huevos no parasitados o previamente parasitados por *T. podisi* fue al azar.

La emergencia total de avispas de una u otra especie a partir de los huevos multiparasitados fue del 77,08%.

El número de individuos de *T. podisi* emergidos fue significativamente menor que el número de *T. urichi* ($\chi^2=19,703$; $gl=1$; $p<0,001$), y esta última especie representó el 86,49% del total de avispas emergidas.

Por otra parte, la proporción de emergencia de *T. urichi* a partir de los huevos multiparasitados resultó significativamente menor a la proporción registrada a partir de huevos parasitados solamente por esa especie ($p=0,011$).

La proporción promedio de hembras en la progenie de *T. urichi* a partir de huevos multiparasitados fue de 0,875, y semejante a la proporción de hembras de la especie cuando parasita huevos no parasitados por *T. podisi* ($\chi^2=0,007$; $gl=1$; $p=0,934$).

El número de individuos de *T. podisi* y el de *T. urichi* emergidos fue independiente del lapso transcurrido entre oviposiciones ($\chi^2=5,4$; $gl=3$; $p=0,861$ y $\chi^2=0,145$; $gl=3$; $p=0,861$ respectivamente) (Figura 4.1).

Parasitoidismo por *T. urichi* seguido de parasitoidismo por *T. podisi* (Tu+Tp)

Los índices de selección de huevos no parasitados y parasitados para *T. podisi* ($w_{no\ parasitados}=0,809$ y $w_{parasitados}=1,129$) no fueron significativamente diferentes de 1 ($p=0,0599$ y $p=0,053$). Estos resultados indican que *T. podisi* tampoco seleccionó entre huevos no parasitados o previamente parasitados por *T. urichi*, es decir que la distribución de los ataques fue al azar.

La emergencia total de avispas a partir de huevos multiparasitados fue del 66,66%.

El número de individuos de *T. podisi* emergidos fue significativamente menor que el de *T. urichi* ($\chi^2=17,286$; gl=1; $p<0,001$) en el multiparasitoidismo, y esta última especie representó el 89% del total de avispas emergidas.

Por otra parte, la proporción de emergencia de *T. podisi* a partir de los huevos multiparasitados resultó significativamente menor a la proporción registrada a partir de huevos parasitados solamente por esta especie ($p<0,011$).

Solo emergieron 3 individuos de *T. podisi* a partir de los huevos multiparasitados y la proporción de hembras en la progenie fue de 0,66.

Al analizar el efecto del lapso transcurrido entre oviposiciones sobre el resultado de la interacción, el número de individuos de *T. urichi* y de *T. podisi* emergidos no fue significativamente diferente entre los distintos intervalos de tiempo ($\chi^2=0,44$; gl=3; $p=0,932$ y $\chi^2=3,667$; gl=3; $p=0,300$ respectivamente) (Figura 4.1).

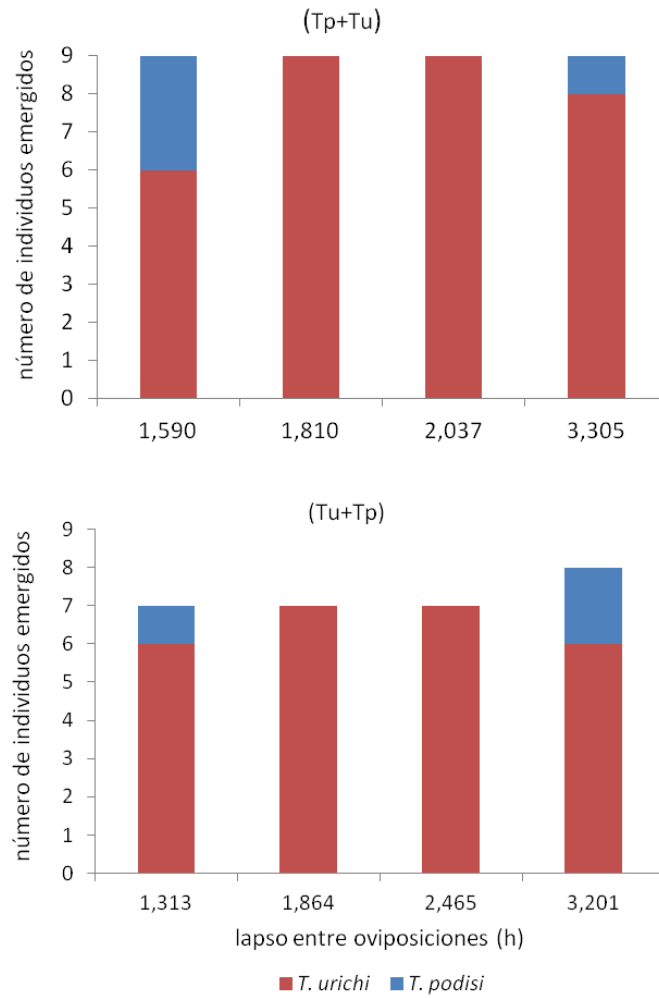


Figura 4.1. Número de individuos emergidos a partir de los huevos multiparasitados, cuando *T. podisi* parasitó primero (T_p+T_u) y cuando *T. urichi* parasitó primero (T_u+T_p), en función del lapso transcurrido entre oviposiciones.

El porcentaje de emergencia de *T. podisi* a partir de huevos multiparasitados, fue independiente del orden en el cual parasitó ($p=0,720$). El mismo patrón fue registrado para la emergencia de *T. urichi* ($p=0,720$).

Observaciones del comportamiento de oviposición de ambas especies

La mayoría de las posturas ofrecidas a las dos especies, tanto las posturas parasitadas previamente por la otra especie como las no parasitadas, fueron atacadas durante las primeras 5 horas de expuestas a los parasitoides. También se registró una menor cantidad de posturas de ambos tipos que no fueron atacadas en ese período.

Durante las observaciones realizadas para determinar la ocurrencia de parasitoidismo, se distinguieron tres comportamientos: 1) “tamborileo”, el cual es realizado por la hembra al caminar sobre la postura del hospedador explorándola con sus antenas antes de parasitarla, 2) oviposición, que implica la inserción del ovipositor dentro del huevo del hospedador y 3) marcado, que implica el raspado de la superficie del huevo del hospedador, con la punta del ovipositor (Strand & Vinson, 1983).

Durante el presente estudio, en algunos casos se observó que el parasitoide rozó el ovipositor sobre alguno de los huevos del hospedador, aunque no había ovipuesto sobre el mismo. En este caso, el movimiento realizado con el ovipositor fue algo diferente al que realiza normalmente una hembra cuando marca un huevo que acaba de parasitar (movimiento en forma de “8”).

Respecto de los huevos que se observaron como multiparasitados, y de los cuales luego no se registró emergencia de avispas, en el 15% de los casos presentaban un contenido incierto, que podría indicar parasitoidismo no exitoso, tal como se mencionó en el Capítulo 2 de esta tesis. Por otro lado, luego de la disección de algunos de esos huevos, se constató que estaban vacíos.

Discusión

Telenomus podisi y *T. urichi* no evitaron el multiparasitoidismo, atacando indistintamente tanto huevos no parasitados, como huevos previamente parasitados por la otra especie. Esto podría deberse a que no pueden distinguir las marcas dejadas por avispas de la otra especie. La incapacidad en la distinción de las marcas podría deberse a la falta de experiencia previa de oviposición (Kearse et al., 2001). Al respecto, Okuda & Yeargan (1988b) realizaron ensayos de superparasitoidismo y de multiparasitoidismo entre *T. podisi*

y *Trissolcus euschisti*, encontrando que estas avispas discriminaron las marcas a nivel intraespecífico, pero no a nivel interespecífico. Por el contrario, podría haber ocurrido que, aun reconociendo las marcas, la oferta de hospedadores óptimos (posturas sin parasitar por la otra especie) hubiera resultado escasa para el parasitoide, y por lo tanto las avispas no evitaron el multiparasitoidismo.

El resultado del multiparasitoidismo fue diferente para las especies involucradas en cuanto a la emergencia relativa de las mismas. Esta interacción resultó más desfavorable para *T. podisi*, ya que independientemente de que haya sido la primera o la segunda especie en contactar la postura, su emergencia fue significativamente menor que la de la otra especie, y también menor que la registrada a partir de huevos parasitados solamente por ella.

Se han descripto varios mecanismos empleados por los parasitoides que se encuentran compitiendo. Uno de ellos es el ovicidio heterospecífico, realizado por la segunda avispa al usar su ovipositor para destruir al huevo de la hembra que ovipuso primero. Durante este estudio, algunas hembras de *T. urichi* expuestas en segundo lugar realizaron una “prueba” con el ovipositor sobre huevos que luego no marcaron, lo que evidenciaría que no parasitaron. En estos huevos podría haber ocurrido ovicidio ya que no se registró emergencia, y mediante disección se observó en ellos un contenido incierto. Ganesalingam (1966) describe el proceso por el cual un parasitoide mata los huevos de otro parasitoide al introducirle el ovipositor en el hospedador, aún sin oviponer. Collier et al. (2002) observaron el comportamiento de dos especies del género *Encarsia*, indicando que ambas especies cometieron ovicidio por medio de movimientos del ovipositor a través de la cutícula de las ninfas hospedadoras, antes de oviponer. Este comportamiento ha sido observado en especies de varias familias de himenópteros parasitoides (Pteromalidae, Aphelinidae, Bethyidae, Ichneumonidae, Braconidae) (Godfray, 1994).

Otro mecanismo involucrado en la competencia entre parasitoides implica el ataque físico directo entre las larvas del primer estadio, las cuales utilizan sus mandíbulas para atacar y destruir a sus competidores (Salt, 1961). Las larvas de segundo estadio, aunque más grandes, son menos móviles y no poseen mandíbulas, por lo cual resultan más susceptibles (Marris & Casperd, 1996; Volkoff & Colazza, 1992) al ataque de una larva de primer estadio. En este caso tendría mayor probabilidad de sobrevivir la larva de la especie

que parasitó en segundo lugar. El orden de oviposición de cada especie en los huevos multiparasitados, no influyó el resultado de la interacción, ya que no se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de emergencia de cada especie, entre los tratamientos (primero *T. podisi* y luego *T. urichi*, y viceversa). Tampoco se encontró efecto del lapso transcurrido entre las dos oviposiciones en un mismo huevo del hospedador, sobre la emergencia de las especies. Si bien el porcentaje de emergencia de *T. podisi* fue muy bajo, avispas de esta especie emergieron tanto a partir de huevos en los cuales el lapso entre oviposiciones fue corto como a partir de los cuales este lapso fue largo. Cusumano et al. (2011) sugieren que cuando la emergencia de una u otra de las especies que multiparasitaron, no está influenciada ni por el orden en que las dos avispas ovipusieron, ni por el lapso transcurrido entre las dos oviposiciones, la eliminación de las larvas supernumerarias no estaría mediada por ataque físico entre las larvas, sino por supresión fisiológica. Si bien no es posible descartar la competencia por ataque físico entre las larvas, los resultados de este estudio sugieren que la supresión fisiológica podría ser el mecanismo involucrado. El ataque físico indica competencia por interferencia mientras que la supresión fisiológica conduce a competencia por explotación, con implicancias diferentes en la dinámica parasitoide-hospedador (Hassell, 2000).

Los resultados obtenidos sugieren que *T. urichi* sería mejor competidora que *T. podisi* sobre *P. guildinii*. Sin embargo, a partir de los muestreos en el área de estudio, se encontró que *T. podisi* fue la especie dominante sobre posturas de este hospedador (Capítulo 2).

Zwölfer (1971) clasificó a los parasitoides en “intrínsecamente superiores” si tienen mejores habilidades en la competencia larval, y “extrínsecamente superiores” si tienen mejores habilidades en la dispersión y la localización de sus hospedadores. Según Hokyo et al. (1966), los parasitoides “intrínsecamente superiores” tendrían un tiempo de desarrollo más corto, lo que les permitiría disponer del hospedador por más tiempo.

Las hembras de *T. urichi*, cuyas larvas son buenas competidoras, serían menos eficientes en la localización de las posturas de *P. guildinii*. De hecho, el parasitoidismo a campo de posturas de esta “chinche” por parte de *T. urichi* fue registrado solamente durante la temporada 2010-2011, y principalmente en alfalfa (Capítulo 2), coincidiendo con las observaciones de mayor abundancia de posturas de esta “chinche”. DeBach (1964) afirma

que es posible obtener una indicación de la habilidad de búsqueda de los parasitoides a partir de la facilidad con estos pueden ser encontrados a bajas densidades del hospedador. Esta habilidad de búsqueda de las posturas está mediada por una serie de claves ambientales, muchas de las cuales son químicas, originadas a partir de las plantas (sinomonas) o del hospedador (kairomonas). Colazza y sus colaboradores (1997, 1999, 2004a, 2004b, 2007, 2009) han demostrado la atracción de varias especies de parasitoides esceliónidos hacia posturas de pentatómidos, mediada por kairomonas. Por otra parte, Amarasekare (2000) propone que cuando la densidad del hospedador es baja, dominará la competencia por explotación, y solo persistirá la especie de parasitoide con mejor capacidad de dispersión, que encuentre primero la postura. Cuando la densidad del hospedador es alta, dominará la competencia por interferencia, y solo persistirá la especie más agresiva. Si la densidad del hospedador es intermedia, se espera que ocurra coexistencia.

Por otro lado, *T. urichi* en general es observada a campo más frecuentemente sobre posturas de *Edessa meditabunda* y de *Dichelops furcatus* (Molinari et al., 2008), las cuales serían más fácilmente encontradas por esta especie. Castiglioni et al. (2010) y Molinari et al. (2008) mencionan que cuando estos hospedadores están presentes en el cultivo de soja junto con *P. guildinii*, esta última especie está mayormente parasitada por *T. podisi*. Si bien *E. meditabunda* y *D. furcatus* fueron muy poco frecuentes en los cultivos de soja y alfalfa estudiados en esta Tesis, *T. urichi* podría estar utilizando a estas “chinchas” como recurso, en otros parches de vegetación aledaños.

CAPÍTULO 5

**Efecto de la conservación en frío
de los huevos de *Piezodorus guildinii*
sobre el desempeño de *Telenomus podisi***

CAPÍTULO 5

Efecto de la conservación en frío de los huevos de *Piezodorus guildinii* sobre el desempeño de *Telenomus podisi*

Introducción

Se denomina “control biológico” a la utilización de un organismo para reducir la densidad poblacional de otro. Este control puede ser ejercido espontáneamente por los enemigos naturales de las plagas (control biológico natural), o estar mediado por acciones humanas. En este último caso, se denomina control biológico por conservación a la protección y estimulación del desempeño de los enemigos naturales presentes. En otros casos, los enemigos naturales son colectados en ciertas áreas de exploración (por lo general la zona de origen de la plaga) y luego liberados en las zonas donde las plagas fueron introducidas, con la intención de que el enemigo natural desarrolle poblaciones suficientemente grandes para disminuir las poblaciones de las plagas (control biológico clásico). Cuando los enemigos naturales son criados masivamente y liberados en gran número (100.000 individuos o más) se habla de control biológico aumentativo.

Actualmente alrededor de 230 especies de enemigos naturales invertebrados son usadas como agente de control biológico aumentativo. La mayoría de estas especies (95%) son artrópodos, principalmente de los órdenes Hymenoptera, Acari, Coleoptera y Heteroptera (van Lenteren, 2011).

Dentro de los himenópteros, las avispas de la familia Scelionidae son importantes enemigos naturales de diversas especies de “chinchas” perjudiciales para los cultivos, y más de 20 especies han sido usadas para el control biológico de esas plagas en varios países (Luck, 1981; van Lenteren & Bueno, 2003). Se han realizado liberaciones inoculativas de *Trissolcus basalis* principalmente para controlar a *Nezara viridula* en la Argentina (Crouzel & Saini, 1983), Brasil (Corrêa-Ferreira & Moscardi, 1996), Italia (Colazza & Bin, 1995) y los Estados Unidos (Hoffmann et al., 1991), y para el control de esa “chinche” y de *Agonoscelis rutila* en Australia (Clarke, 1990a; Noble, 1937). *Telenomus podisi* también ha

sido usada en liberaciones para controlar a *Euschistus heros*, *Piezodorus guildinii* y *N. viridula* en campos de producción orgánica de soja en Brasil (Sujii et al., 2002).

El uso exitoso de los parasitoides como agentes de control depende en gran medida de la cantidad y de la calidad de los organismos liberados. Una dificultad frecuente al momento de implementar estas medidas de control es la obtención de grandes cantidades de individuos, de calidad apropiada, al momento en que son requeridos (Orr, 1988). El mantenimiento de crías de estos insectos también resulta importante para la experimentación en investigaciones sobre su biología, su fisiología y su comportamiento. En este sentido, variadas técnicas han sido diseñadas con el fin de optimizar el sostenimiento de grandes colonias de insectos en el laboratorio. Algunas de ellas se focalizan en los hospedadores, tales como el desarrollo de dietas artificiales (Fortes et al., 2006; Panizzi et al., 2000), la irradiación de los huevos del hospedador con rayos γ para incrementar el tiempo durante el cual son susceptibles de ser parasitados (Nordlund et al., 1983) y el almacenamiento en frío de hospedadores sanos (sin parasitar) (Corrêa-Ferreira, 1998). Otras técnicas se centran en los parasitoides, como por ejemplo el almacenamiento en frío de hospedadores parasitados (Dass & Ram, 1983; Noble, 1937), el desarrollo de parasitoides *in vitro* sobre dietas artificiales (Shirazi, 2006), y el almacenamiento en frío de pupas o adultos del parasitoide (Foerster et al., 2004; Foerster & Doetzer, 2006).

En lo referente a las técnicas para el almacenamiento del hospedador como recurso para varias especies de parasitoides oófagos, existe una gran cantidad de bibliografía respecto de los hospedadores de las especies del género *Trichogramma* (Parra & Cònsoli, 2009 y sus referencias). Estos trabajos han aportado valiosa información en lo referente a todas las técnicas mencionadas en el párrafo anterior, y han servido de guía para estudios similares, sobre otras especies de parasitoides. En particular, en referencia al almacenamiento de hospedadores de parasitoides esceliónidos, se ha conseguido la conservación en frío de huevos del hospedador viables para el parasitismo con resultados muy variables en lo que respecta a temperaturas y lapsos de conservación (Orr, 1988). Estos lapsos de conservación variaron ampliamente entre los 8 días y los 5 años.

Respecto del almacenamiento en frío de pupas o adultos de los parasitoides, Foerster et al. (2004) y Foerster & Doetzer (2006) encontraron que tanto la temperatura de

almacenamiento de pupas y adultos de *T. basalis* y *T. podisi* como la temperatura a la cual se los acondicionó luego, afectaron la longevidad y la fecundidad de la hembra.

Características inherentes de los esceliónidos, como simplicidad de la dieta del adulto, escasez de hiperparasitoides y patógenos, buena capacidad reproductiva, pequeño tamaño (y por lo tanto mínimos requerimientos de espacio), y la frecuente capacidad de utilizar hospedadores alternativos, hace que la cría de estas avispas resulte factible. No obstante, el sostenimiento de las colonias de estos parasitoides está fuertemente restringido por la calidad de la cría de sus hospedadores, la cual se deteriora luego de pocas generaciones en el laboratorio con las técnicas utilizadas actualmente (Parra & Cônsoli, 2009). En particular, establecer grandes colonias de *Piezodorus guidinii* resulta difícil, ya que un muy bajo porcentaje de los huevos colectados a campo con el fin de iniciar las colonias, alcanzan la fase adulta. Además, la reproducción comienza recién durante la sexta semana de vida (15 días después de la muda imaginal), sólo un 60 ó 70% de las hembras resultan fértiles (Panizzi & Slansky Jr, 1985a; Serra & La Porta, 2001), y cada una de ellas realiza solamente entre 3 y 5 posturas de 14 huevos en promedio durante toda su vida. Esta producción de huevos/hembra resulta muy baja, especialmente en comparación con las 5 posturas de 80 huevos en promedio que realiza *N. viridula* (Liljesthröm, 1983). Otro factor importante es la elevada mortalidad ninfal (60%) que se registra con las metodologías de crías utilizadas comúnmente (Serra & La Porta, 2001) y la dificultad de mantener la colonia durante todo el año, ya que aún en condiciones óptimas de temperatura y fotoperíodo constantes en laboratorio, la reproducción se ve interrumpida por el proceso de hibernación.

Estas dificultades en la obtención de grandes cantidades de huevos de la “chinche”, junto con el corto lapso durante el cual los mismos son aptos para el parasitoidismo por parte de los esceliónidos (48h), ocasionan complicaciones en la cría del nivel trófico superior, los parasitoides. La sincronización del ciclo de ambas especies, esto es, obtener huevos de las “chinchas” con escaso tiempo de desarrollo al momento en que se dispone de hembras del parasitoide en edad reproductiva, resulta una importante limitación.

Por todo lo expuesto, es importante analizar las posibilidades de la aplicación de técnicas de almacenamiento de huevos de esta “chinche” a fin de tener disponibilidad de hospedadores para la cría de sus parasitoides. Existen antecedentes de que la conservación

de huevos del hospedador en frío puede tener consecuencias negativas o neutras en el desempeño de los parasitoides esceliónidos.

Objetivo:

- determinar el efecto del uso de huevos de *P. guildinii* conservados a baja temperatura, sobre el desempeño de *T. podisi*.

Materiales y métodos

Posturas de *P. guildinii* de hasta 24h de desarrollo fueron conservadas -18°C por un lapso de tres meses, envueltos en papel de aluminio, siguiendo la metodología propuesta por Corrêa-Ferreira (1993). Luego de ese lapso, los huevos fueron retirados del congelador y mantenidos a 5°C por dos horas, y finalmente a temperatura ambiente (25°C aproximadamente) por otras dos horas, antes de ser ofrecidos a los parasitoides (Corrêa-Ferreira com. pers.). Cuarenta huevos (en promedio) fueron ofrecidos a hembras de *T. podisi* con 24h como adultas. Se realizaron 53 réplicas, y las posturas estuvieron expuestas a los parasitoides por un lapso de 48h, y luego fueron mantenidas bajo condiciones controladas ($25 \pm 1^\circ\text{C}$; $70 \pm 5\%$ HR; 14h de fotofase) hasta la emergencia de los parasitoides.

Se registró el número de huevos parasitados, y el número y sexo de las avispas emergidas. Los huevos de los que no se registró emergencia alguna fueron disecados para constatar la presencia de pupas o adultos del parasitoide.

El efecto de la calidad del huevo sobre la proporción de parasitoidismo fue comparado en relación a los resultados obtenidos cuando hembras de *T. podisi* con 24h como adultas parasitaron huevos de *P. guildinii* frescos (Capítulo 3) mediante ANOVA. Los huevos provenían de la misma población de “chinchas” adultas que se utilizó para obtener los huevos que se conservaron en freezer, para realizar el otro tratamiento de este experimento. Para las proporciones de emergencia y de hembras en la progenie, el efecto de la calidad del huevo fue analizado mediante la prueba U de Mann-Whitney.

Resultados

Durante la congelación se produce la muerte del huevo de la “chinche”, por lo tanto no se registró formación de ninfa en ningún caso.

La proporción de parasitoidismo de huevos de *P. guildinii* congelados, por parte de avispas de *T. podisi*, fue muy baja (0,4) (Figura 5.1). Al comparar el desempeño de *T. podisi* sobre huevos de *P. guildinii* frescos o congelados, la proporción de parasitoidismo fue significativamente menor sobre los segundos ($F=84,510$; $gl=1, 115$; $p<0,001$) (Figura 5.1).

La proporción de emergencia de la progenie fue menor a partir de huevos congelados que a partir de huevos frescos ($U=605,000$; $Z=5,0155$; $p<0,001$) (Figura 5.2).

La proporción de hembras fue menor a partir de huevos congelados que a partir de huevos frescos ($U=967,000$; $Z=-2,478$; $p=0,013$) (Figura 5.3).

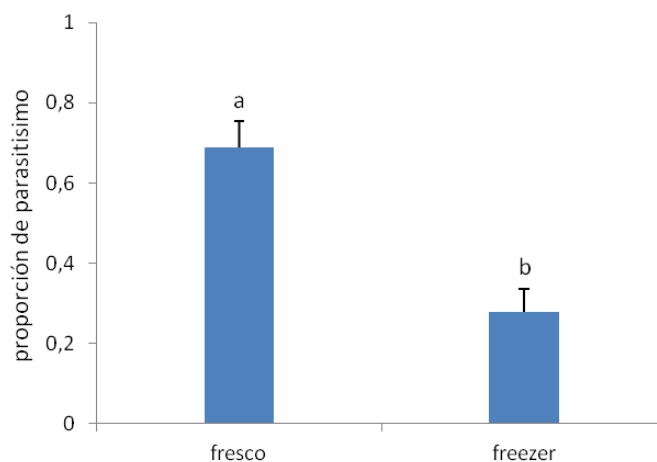


Figura 5.1. Proporción de parasitoidismo de huevos de *P. guildinii* frescos y congelados, parasitados por *T. podisi*. Las barras indican el intervalo de confianza al 95%. Letras distintas indican diferencias significativas.

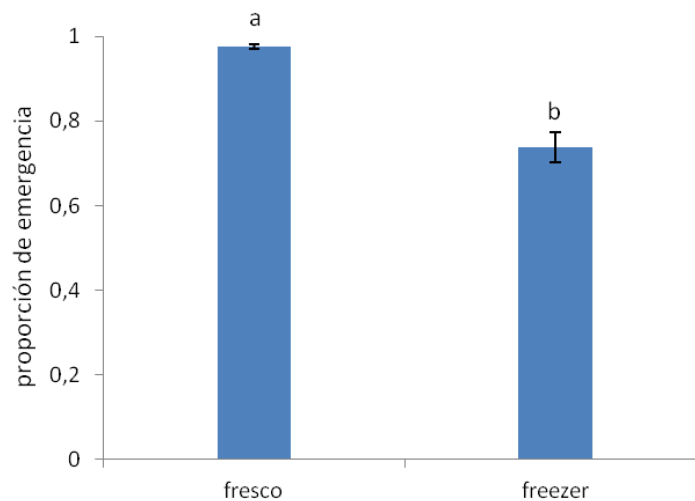


Figura 5.2. Proporción de emergencia de la progenie de *T. podisi* al parasitar huevos de *P. guildinii* frescos ó congelados. Las barras indican el intervalo de confianza al 95%. Letras distintas indican diferencias significativas.

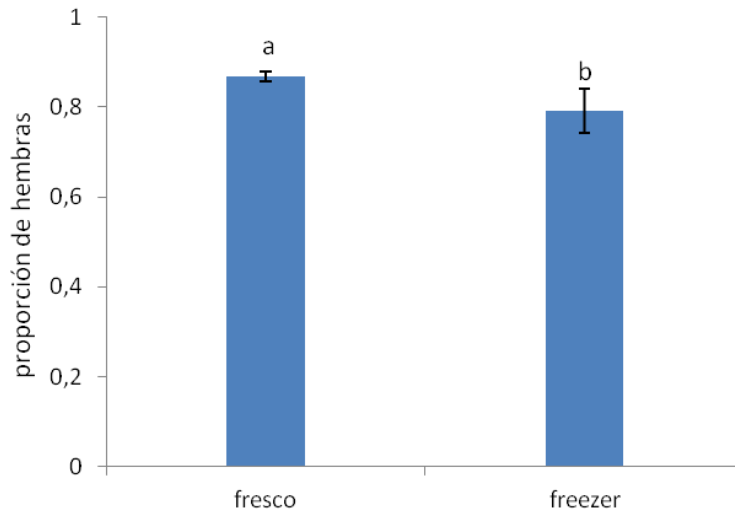


Figura 5.3. Proporción de hembras en la progenie de *T. podisi* al parasitar huevos de *P. guildinii* frescos ó congelados. Las barras indican el intervalo de confianza al 95%. Letras distintas indican diferencias significativas.

Discusión

La proporción de parasitoidismo causada por *T. podisi* sobre huevos de *P. guildinii* conservados en frío fue significativamente menor que la observada al parasitar huevos frescos. Muchos estudios han evaluado posibles técnicas de almacenamiento de huevos de “chinchas” (Orr, 1988), demostrando la existencia de una importante interacción significativa entre la temperatura y el lapso durante el cual se realiza el almacenamiento (Corrêa-Ferreira, 1993a). En general, los huevos de “chinchas” conservados a temperaturas de entre -2 y -10°C solo permanecieron viables para el parasitoidismo por parte de esceliónidos por un período de tiempo inferior a los 45 días. Cuando la conservación de los huevos sucedió a -18°C, el desarrollo de parasitoides no se vio afectado cuando el período de almacenamiento no superó los 90 días. La técnica de almacenamiento que permitió conservar los huevos por lapsos mayores, sin alterar el desarrollo de los parasitoides, fue la utilización de nitrógeno líquido (-196°C por hasta un año) (Corrêa-Ferreira, 1998). En contraposición, Mahmoud & Lim (2007) encontraron que los huevos de *Dolycoris baccarum* (Hemiptera: Pentatomidae) freezados no pudieron ser usados para criar al parasitoide *Trissolcus nigripedius* ya que el porcentaje de parasitoidismo disminuyó de un 99% (porcentaje de parasitoidismo sobre huevos frescos) a un 44% cuando se utilizaron huevos freezados por tan solo 8 días. Ryan et al. (1981) encontraron que *Telenomus californicus* se desarrolla pobremente sobre huevos de *Orgyia pseudotsugata* que han sido conservados en freezer, mientras que su desarrollo es bueno sobre huevos refrigerados a 5°C. *Gryon gnidus* (Hymenoptera: Scelionidae) tampoco se desarrolla adecuadamente sobre huevos freezados de *Acanthomia tomentosicollis* (Hemiptera: Coreidae).

La emergencia de la progenie de *T. podisi* fue menor a partir de huevos congelados que a partir de huevos frescos. Esto indicaría una disminución en la calidad del huevo del hospedador como recurso, resultando que la larva no se desarrolle o que el parasitoide desarrollado dentro del huevo no tenga la capacidad de emerger. La presencia de larvas muertas dentro del huevo del hospedador no pudo ser observada en este estudio con la metodología empleada, tanto en los huevos frescos como en los congelados, por lo cual el efecto sobre el desarrollo no fue estimado. A partir de las pupas y adultos del parasitoide

observados muertos dentro del huevo del hospedador, los resultados indican un marcado efecto negativo sobre la capacidad de las avispas de emerger a partir de huevos congelados. Esto podría deberse a cambios en la dureza del corion de los huevos del hospedador, producidos por el congelamiento y el posterior descongelamiento de los mismos, que dificulten el corte del corion que realizan las avispas con sus mandíbulas para emerger (Kivan & Kilic, 2005).

Un factor que puede afectar la calidad de los huevos almacenados es la tasa de cambio de la temperatura. El enfriamiento lento permite aclimatación al frío, y del mismo modo, la tasa de calentamiento puede influir sobre la tolerancia térmica (Chown & Nicolson, 2004). En contraposición, existen evidencias de que un ritmo lento de cambio de temperatura puede resultar desfavorable (Sinclair & Rajamohan, 2008).

Hasta la actualidad no se conocen estudios en relación a la conservación de huevos de *P. guildinii*. Los resultados obtenidos en este estudio indican que la conservación de huevos de este hospedador a -18°C por un lapso de tres meses no permitiría el desarrollo óptimo de las colonias de *T. podisi* ni de *T. urichi*, ya que la proporción de parasitoidismo exitoso es menor que la obtenida a partir de huevos frescos. Ensayos con otras combinaciones de temperatura y lapsos de congelamiento podrían aportar mejores resultados. Sin embargo, esta técnica puede ser considerada una herramienta útil ante las dificultades ya mencionadas que ocurren durante la cría de estas especies en condiciones de laboratorio.

CONSIDERACIONES FINALES

- En los cultivos de soja, alfalfa y trébol rojo del noreste de la provincia de Buenos Aires, durante las temporadas 2006-2007, 2007-2008, 2008-2009, 2009-2010 y 2010-2011, se registraron los pentatómidos fitófagos *Piezodorus guildinii*, *Nezara viridula*, *Edessa mediatibunda* y *Dichelops furcatus*.
- La abundancia relativa de las especies de hemípteros presentes en el cultivo de soja en la provincia de Buenos Aires se ha modificado en los últimos años, siendo actualmente *P. guildinii* la más importante, mientras que hasta los '90 predominó *N. viridula*.
- La colonización del cultivo de soja por parte de *P. guildinii* comienza con el inicio del período reproductivo del cultivo, y es posterior a la colonización de la alfalfa y el trébol rojo. Si bien se registró un menor número de posturas en el trébol rojo, estos dos últimos cultivos son importantes como recursos disponibles en el momento en que finaliza la hibernación de *P. guildinii*, y el recurso representado por el cultivo de soja aún no está disponible.
- En las temporadas 2007-2008 y 2008-2009 se registró una importante sequía y se observó un retraso en la floración y en la fructificación de los cultivos. Esto condujo a una colonización tardía de los mismos por parte de las chinches, en relación a las otras temporadas.
- *Telenomus podisi* fue la especie parasitoide de huevos de *P. guildinii* predominante, seguida por *T. urichi* y por *T. basalis*. El parasitismo por *T. urichi* fue registrado principalmente en alfalfa y solo en la temporada 2010-2011, en la cual la abundancia de *P. guildinii* fue mayor.
- La pronunciada sequía durante las temporadas 2007-2008 y 2008-2009 habría afectado más a los parasitoides que a las chinches, ocasionando una reducción significativa del impacto del conjunto de los parasitoides sobre *P. guildinii*.

- No se observó emergencia de parasitoides a partir de las posturas colectadas en trébol rojo. Coincidentemente la depredación de posturas fue mayor en este cultivo, lo que sugeriría que la depredación intragremio concurrente puede ser una de las causas. En soja y en alfalfa, a pesar de las diferencias entre estos hábitats para los hospedadores y sus parasitoides, el parasitismo global fue semejante en cada temporada.
- El impacto del parasitismo estuvo más influenciado por la eficiencia en la detección de posturas que por la eficiencia del parasitismo. Este índice fue densoindependiente para *T. podisi* y para *T. urichi* a escala espacial de la postura.
- En laboratorio, el parasitismo y la emergencia de adultos a partir de las combinaciones parasitoide-hospedador *T. podisi*-*P. guildinii*, *T. urichi*-*P. guildinii* y *T. basalis*-*N. viridula* fueron altos, y la proporción de sexos en la progenie estuvo altamente sesgada hacia las hembras, y similares a los registrados en la bibliografía.
- *Piezodorus guildinii* no sería un hospedador adecuado para *T. basalis*. Las hembras jóvenes de este parasitoide no parasitaron huevos de *P. guildinii*. Las hembras de mayor edad, cargadas de huevos, aceptaron a este hospedador aunque el parasitismo fue muy bajo.
- *Nezara viridula* no sería un hospedador adecuado para *T. podisi* y *T. urichi*, ya que parasitaron muy poco las posturas de esta “chinche”, y si bien hubo formación de algunas avispas adultas, ninguna de ellas logró emerger. Estas especies podrían ejercer un impacto negativo sobre la población de *N. viridula* provocando la mortalidad de sus huevos, pero su respuesta numérica a partir de este hospedador sería nula o muy baja.
- La proporción de parasitismo y de emergencia de la progenie de *T. podisi* y de *T. urichi* al parasitar posturas de *P. guildinii* no fue afectada por la edad del parasitoide al parasitar, durante un lapso de hasta 10 días para *T. podisi* y hasta 6 días para *T. urichi*. Sin embargo, la proporción de hembras en la progenie de las hembras más viejas fue menor.

- *Telenomus podisi* y *T. urichi* no evitaron el multiparasitismo sobre posturas de *P. guildinii*, en condiciones óptimas para las hembras de los parasitoides (jóvenes y cargadas de huevos), y ante una oferta escasa de hospedadores no parasitados. Estos parasitoides multiparasitaron debido a que no distinguen las marcas dejadas por avispas de la otra especie, o a que en las condiciones mencionadas el multiparasitismo no representaría una desventaja.
- A partir de los huevos multiparasitados, la emergencia de *T. urichi* fue siempre significativamente mayor que la de *T. podisi*, independientemente del orden en que parasitó y del lapso transcurrido entre las oviposiciones de ambas especies.
- Cuando los hospedadores *P. guildinii*, *E. mediotabunda* y *D. furcatus* están juntos en el cultivo de soja ocurriría separación de nichos para los parasitoides. *T. podisi* parasitaría mayormente a *P. guildinii*, mientras que *T. urichi* utilizaría a *E. mediotabunda* y *D. furcatus*, los cuales si bien fueron muy poco frecuentes en soja podrían estar presentes en la vegetación natural aledaña a los cultivos del área de estudio.
- Si bien en el campo el parasitoide dominante de *P. guildinii* fue *T. podisi*, los resultados de laboratorio indican que *T. urichi* posee mayor habilidad competitiva y un buen desempeño sobre este hospedador. A campo, la tasa de encuentros entre *T. urichi* y *P. guildinii* podría ser baja por su ineficiencia en la detección de posturas, o por preferir otros hospedadores, mientras que *T. podisi* tendría una menor habilidad competitiva pero mayor capacidad de detectar posturas de *P. guildinii*.
- La proporción de parasitismo de *T. podisi* a partir de huevos de *P. guildinii* conservados a -18°C por un lapso de 3 meses fue significativamente menor que la registrada a partir de huevos frescos, obteniéndose en promedio un 40% de parasitismo. Si bien otras combinaciones de temperatura y lapsos de conservación de los huevos podrían arrojar mejores resultados, la técnica evaluada resultaría útil ante las dificultades que ocurren durante la cría de estas especies en condiciones de laboratorio.

REFERENCIAS

- Agboka, K.; Schulthess, F.; Chabi-olaye, A.; Labo, I.; Gounou, S. & Smith, H. 2002. Self-, intra-, and interspecific host discrimination in *Telenomus busseolae* Gahan and *T. isis* Polaszek (Hymenoptera: Scelionidae), sympatric egg parasitoids of the african cereal stem borer *Sesamia calamistis* Hampson (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Behavior* 15: 1-12.
- Agrawal, A.A. 2000. Mechanisms, ecological consequences and agricultural implications of tri-trophic interactions. *Current Opinion in Plant Biology* 3: 329-335.
- Aizen, M.A.; Garibaldi, L.A. & Dondo, M. 2009. Expansión de la soja y diversidad de la agricultura argentina. *Ecología Austral* 19: 45-54.
- Ali, M. & Ewiess, M.A. 1977. Photoperiodic and temperature effects on rate of development and diapause in the green stink bug, *Nezara viridula* L. (Heteroptera: Pentatomidae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 84: 256-264.
- Amarasekare, P. 2000. Coexistence of competing parasitoids on a patchily distributed host: local vs. spatial mechanisms. *Ecology* 81: 1286-1296.
- Aragón, J. R. 2002. Insectos perjudiciales de la soja. *Idia XXI*: 75-82.
- Aragón, J. R. 2003. Plagas de la soja. *Agromercado. Cuadernillo de soja*: 46-51.
- Aragón, J.R.; Molinari, A. & Diez de Lorenzatti, S. 1997. Manejo integrado de plagas. IN: El cultivo de la soja en Argentina. Giorda, L.M. & Baigorri, H.E.J.(Eds.). INTA, Centro Regional Córdoba. 308pp.
- Arias-Penna, T.M. 2002. Lista de los géneros y especies de la superfamilia Platygastroidea (Hymenoptera) de la Región Neotropical. *Biota Colombiana* 3: 215-233.
- Askew, R.R. 1968. A survey of leaf miners and their parasites on *Laburnum*. *Transactions of the Royal Entomological Society of London* 120: 1-37.
- Askew, R.R. & Shaw, M.R. 1986. Parasitoid communities: their size, structure, and development. IN: *Insect Parasitoid*. Waage, J.K. & Greathead, D.(Eds.). Academic Press. London, UK. 264pp.

- Awadalla, S.S. 1996. Influence of temperature and age of *Nezara viridula* L. eggs on the scelionid egg parasitoid, *Trissolcus megalcephalus* (Ashm) (Hym., Scelionidae). *Journal of Applied Entomology* 120: 445-448.
- Awan, M.S., Wilson, L. T. & Hoffmann, M. P. 1990. Comparative biology of three geographic populations of *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae). *Environmental Entomology* 19: 387-392.
- Bakker, K.; van Alphen, J.J.M.; van Batenburg, F.H.D.; van der Hoeven, N.; Nell, H.W.; van Strien-van Liempt, W.F.T.H. & Turlings, T.C.J. 1985. The function of host discrimination and superparasitization in parasitoids. *Oecologia* 572-576.
- Bayram, A.; Salermo, G.; Onofri, A. & Conti, E. 2010. Sub-lethal effects of two pyrethroids on biological parameters and behavioral responses to host cues in the egg parasitoid *Telenomus busseolae*. *Biological Control* 53: 153-160.
- Bell, W.J. 1990. Searching behavior patterns in insects. *Annual Review of Entomology* 35: 447-467.
- Bell, W.J. & Bohm, M.K. 1975. Oosorption in insects. *Biological Review* 50: 373-396.
- Benamú, M.A.; Schneider, M.I. & Sánchez, N.E. 2010. Effects of the herbicide glyphosate on biological attributes of *Alpaida veniliae* (Araneae, Araneidae), in laboratory. *Chemosphere* 78: 871-876.
- Berryman, A.A. 1987. The theory and classification of outbreaks. IN: *Insect outbreaks*. Barbosa, P. & Schultz, J.C.(Eds.). Academic Press. San Diego, California, USA.
- Bimboni, H.G. 1977. Daños producidos en soja por distintas densidades de población de chinche verde *Nezara viridula* (L.). *IDIA* 2: 76-82.
- Bin, F. & Vinson, S.B. 1990. Efficacy assessment in egg parasitoids (Hymenoptera): proposal for a unified terminology. IN: *Trichogramma and other egg parasitoids*. 3rd International Symposium. Wajnberg, E. & Vinson, S.B.(Eds.). Les colloques de l'Institut National de la Recherche Agronomique. Paris, Francia. 179pp.

- Bolhuis, J.J. & Giraldeau, L.-A. 2005. The behavior of animals: mechanisms, function, and evolution. Blackwell Publishing, Inglaterra. Oxford. 515pp.
- Braman, S.K. & K.V. Yeargan. 1989. Reproductive strategy of *Trissolcus euschisti* (Hymenoptera: Scelionidae) under conditions of partially used host resources. Annals of the Entomological Society of America 82: 172-176.
- Buschman, L.L. & Whitcomb, W.H. 1980. Parasites of *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) and other hemiptera in Florida. Florida Entomologist 63: 154-162.
- Cabrera, A.L. 1976. Regiones fitogeográficas argentinas. Acme. Buenos Aires, Argentina. 85pp.
- CADER (Cámara Argentina de Energías Renovables). 2011. Reporte Cuarto Trimestre 2010.
- CASAFE (Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes de la Argentina). 2009. Guía de Productos Fitosanitarios.
- Castiglioni, E.; Alzugaray, R.; Ribeiro, A. & Loíacono, M.S. 2005. Parasitoides de huevos de *Piezodorus guildinii* (Westwod) en sistemas agrícolas pastoriles del litoral oeste uruguayo. V Simposio de recursos genéticos para América Latina y El Caribe. Montevideo, Uruguay. 23-25 noviembre de 2005.
- Castiglioni, E.; Ribeiro, A.; Alzugaray, R.; Silva, H.; Ávila, I. & Loíacono, M.S. 2010. Prospección de parasitoides de huevos de *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae) en el litoral oeste de Uruguay. Agrociencia Uruguay 14: 22-25.
- Catalán, J. & Verdú Gallardo, M.J. 2005. Evaluación de dos parasitoides de huevos de *Nezara viridula*. Boletín de Sanidad Vegetal. Plagas 31: 187-198.
- Chabi-olaye, A.; Schulthess, F.; Poehling, H.-M. & Borgemeister, C. 2001. Host location and host discrimination behaviour of *Telenomus isis*, an egg parasitoid of the african cereal stem borer *Sesamia calamistis*. Journal of Chemical Ecology 27: 663-678.
- Charnov, E.L. 1982. The theory of sex allocation. Princeton University Press. Princeton, NJ, USA.
- Charnov, E.L.; Los-den Hartogh, R.L.; Jones, W.T. & van den Assem, J. 1981. Sex ratio evolution in a variable environment. Nature 289: 27-33.

- Chow, F.J. & Mackauer, M. 1984. Inter and intra-specific larval competition in *Aphidius smithi* and *Praon pequodorum* (Hymenoptera: Aphididae). Canadian Entomologist 116: 1097-1107.
- Chown, S.L. & Nicolson, S.W. 2004. Insect physiological ecology: mechanisms and patterns. Oxford University Press. Oxford, UK.
- Cividanes, F.J. & Figueiredo, J.G. 1996a. Desenvolvimento e emergencia de *Trissolcus brochymenae* (Ashmead) e *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em diferentes temperaturas. Anais Sociedade Entomológica do Brasil 25: 207-211.
- Cividanes, F.J. & Figueiredo, J.G. 1996b. Desenvolvimento e emergencia de *Trissolcus brochymenae* (Ashmead) e *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em diferentes temperaturas. Anais Sociedade Entomológica do Brasil 25: 207-211.
- Cividanes, F.J. & Parra, J.R.P. 1994. Biologia em diferentes temperaturas e exigências térmicas de percevejos pragas da soja. II. *Euschistus heros* (Fabr.) (Heteroptera: Pentatomidae). Pesquisa Agropecuária Brasileira 29: 1841-1846.
- Clarke, A.R. 1990a. The control of *Nezara viridula* L. with introduced egg parasitoids in Australia. A review of a "landmark" example of classical biological control. Australian Journal of Agricultural Research 41: 1127-1146.
- Clarke, A.R. 1990b. The control of *Nezara viridula* L. with introduced egg parasitoids in Australia. A review of a "landmark" example of classical biological control. Australian Journal of Agricultural Research 41: 1127-1146.
- Cock, M.J.W. 1978. The assessment of preference. Journal of Animal Ecology 47: 805-816.
- Colazza, S.; Aquila, G.; De Pasquale, C.; Peri, E. & Millar, J.G. 2007. The egg parasitoid *Trissolcus basalis* uses n-nonadecane, a cuticular hydrocarbon from its stink bug host *Nezara viridula*, to discriminate between female and male hosts. Journal of Chemical Ecology 33:1405-1420.
- Colazza, S. & Bin, F. 1995. Efficiency of *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae) as an egg parasitoid of *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae) in central Italy. Environmental Entomology 24: 1703-1707.

- Colazza, S.; Fucarino, A.; Peri, E.; Salerno, G.; Conti, E. & Bin, F. 2004. Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids. *Journal of Experimental Biology* 47:53.
- Colazza, S.; Lo Bue, M. & Lo Giudice, D. 2009. The response of *Trissolcus basalis* to footprint contact kairomones from *Nezara viridula* females is mediated by leaf epicuticular waxes. *Naturwissenschaften* 96: 975-981.
- Colazza, S.; McElfresh, J.S. & Millar, J.G. 2004. Identification of volatile synomones, induced by *Nezara viridula* feeding and oviposition on bean spp., that attract the egg parasitoid *Trissolcus basalis*. *Journal of Chemical Ecology* 30: 945-964.
- Colazza, S.; Rosi, M.C. & Clemente, A. 1997. Response of the egg parasitoid *Telenomus busseolae* (Gahan) to sex pheromone of *Sesamia nonagrioides* (Lebebvre). *Journal of Chemical Ecology* 23: 2437-2444.
- Colazza, S.; Salerno, G. & Wajnberg, E. 1999. Volatile and contact chemicals released by *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae) have a kairomonal effect on the egg parasitoid *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae). *Biological Control* 310-317.
- Colazza, S.; Vinson, S.B.; Li, T.Y. & Bin, F. 1991. Sex ratio strategies of the egg parasitoid *Trissolcus basalis* (Woll.) (Hymenoptera, Scelionidae): influence of the host egg patch size. *Redia* 74: 279-286.
- Colinet, H.; Boivin, G. & Hance, T. 2007. Manipulation of parasitoid size using the temperature-size rule: fitness consequences. *Oecologia* 152: 425-433.
- Collier, T.; Kelly, S. & Hunter, M. 2002. Egg size, intrinsic competition, and lethal interference in the parasitoids *Encarsia pergandiella* and *Encarsia formosa*. *Biological Control* 23: 254-261.
- Corrêa-Ferreira, B.S. 1993. Utilização do parasitóide *Trissolcus basalis* (Wollaston) no controle de percevejos da soja. Embrapa. Londrina, PR, BR.
- Corrêa-Ferreira, B.S. 1996. Ocorrência natural do complexo de parasitóides de ovos de percevejos da soja no Paraná. *Anais Sociedade Entomológica do Brasil* 189-199.

- Corrêa-Ferreira, B.S. 1998. Viability of *Nezara viridula* (L.) eggs for parasitism by *Trissolcus basal* (Woll.), under different storage techniques in liquid nitrogen. *Anais Sociedade Entomológica do Brasil* 27: 101-107.
- Corrêa-Ferreira, B.S. & de Azevedo, J. 2002. Soybean seed damage by different species of stink bugs. *Agricultural & Forest Entomology* 4: 145-150.
- Corrêa-Ferreira, B.S. & Moscardi, F. 1995. Seasonal occurrence and host spectrum of egg parasitoids associated with soybean stink bugs. *Biological Control* 5: 196-202.
- Corrêa-Ferreira, B.S. & Moscardi, F. 1996. Biological control of soybean stink bugs by inoculative releases of *Trissolcus basal*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 79: 1-7.
- Corrêa-Ferreira, B.S. & Zamataro, C.E.O. 1989a. Capacidade reproductiva e longevidade dos parasitóides de ovos *Trissolcus basal* (Wollaston) e *Trissolcus mitsukurii* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). *Revista Brasileira de Biologia* 49: 621-626.
- Cronin, J.T. & Strong, D.R. 1993. Substantially submaximal oviposition rates by a mymarid egg parasitoid in the laboratory and field. *Ecology* 74: 1813-1825.
- Crouzel, I.S. & Saini, E.D. 1983. Importación de *Trissolcus basal* (Wollaston) (Hym. Scelionidae) en la Argentina para el control biológico de *Nezara viridula* (L. (Hem. Pentatomidae). *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 42: 257-260.
- Cumber, C.J. 1951. The introduction into New Zealand of *Microphanurus basal* Wool. (Hymenoptera: Scelionidae), egg parasite of the green vegetable bug *Nezara viridula* L. (Pentatomidae). *New Zealand Journal of Science and Technology Section B* 32: 30-37.
- Cusumano, A.; Peri, E.; Vinson, S.B. & Colazza, S. 2011. Intraguild interactions between two egg parasitoids exploring host patches. *BioControl* 56: 173-184.
- Damiens, S.; Bressac, C. & Chevrier, C. 2003. The effect of age on sperm stock and egg laying in the parasitoid wasp, *Dinarmus basal*. *Journal of Insect Science* 3: 1-5.
- Dass, R. & Ram, A. 1983. Effect of frozen eggs of *Corcyra cephalonica* Staiton (Pyralidae: Lepidoptera) on parasitism on *Trichogramma exiguum* (Pinto and Platner) (Trichogrammatidae: Hymenoptera). *Indian Journal of Entomology* 45: 345-347.

Daugherty, D.M.; Neustadt, M.H.; Gehrke, C.W.; Cavanah, L.E.; Williams, L.F. & Green, D.E. 1964. An evaluation of damage to soybeans by brown and green stink bugs. *Journal of Economic Entomology* 57: 719-722.

Davis, C.J. 1964. The introduction, propagation, liberation, and establishment of parasites to control *Nezara viridula* variety *smaragdula* (Fabricius) in Hawaii (Heteroptera: Pentatomidae) . *Proceedings, Hawaiian Entomological Society* 18: 369-376.

DeBach, P. 1964. *Biological control of insect pests and weeds*. Reinhold Publishing Corp. New York, USA. 844pp.

Dimitri, M.J. 1978. *Enciclopedia argentina de agricultura y jardinería*. Acme. Buenos Aires, AR.

Doetzer, A.K. & Foerster, L.A. 2007. Desenvolvimento, longevidade e reprodução de *Trissolcus basalis* (Wollaston) e *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em condições naturais durante a entressafra da soja no sul do Paraná. *Neotropical Entomology* 36: 233-242.

Doyon, J. & Boivin, G. 2006. Impact of the timing of male emergence on mating capacity of males in *Trichogramma evanescens* Westwood. *BioControl* 51: 703-713.

Edelstein, J.D.; Grilli, M.P.; Trumper, E.V. & Fava, F.D. 2008. Estructura del paisaje agrícola y abundancia de *Nezara viridula* y *Piezodorus guildinii*. IN: *Chinches fitófagas en soja. Revisión y avances en el estudio de su ecología y manejo*. Trumper, E.V. & Edelstein, J.D. (Eds.). Ediciones INTA, Manfredi.

Ehler, L.E. 2002. An evaluation of some natural enemies of *Nezara viridula* in northern California. *BioControl* 37: 309-325.

Falconer, D.S. & Mackay, T.F.C. 1996. *Introduction to quantitative genetics*. Addison Wesley Longman. Harlow, Essex, UK. 464pp.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2011. Estadísticas de producción, por cultivos. <http://faostat.fao.org/faostat/form?collection=Production.Crops.Primary&Domain=Production&servlet=1&hasbulk=0&version=ext&language=EN>.

- Fehr, W.R.; Caviness, C.E.; Burmood, D.T. & Pennington, J.S. 1971. Stage of development description for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. Crop Science 11: 929-931.
- Field, S.A.; Keller, M.A. & Austin, A.D. 1998. Field ecology and behaviour of the egg parasitoid *Trissolcus basalis* (Wollaston) (Hymenoptera: Scelionidae). Transactions of the Royal Society of South Australia 122: 65-71.
- Field, S.A.; Keller, M.A. & Calbert, G. 1997. The pay-off from superparasitism in the egg parasitoid *Trissolcus basalis*, in relation to patch defence. Ecological Entomology 22: 142-149.
- Field, S.A. & Calbert, G. 1999. Don't count your eggs before they're parasitized: contest resolution and the trade-offs during patch defense in a parasitoid wasp. Behavioral Ecology 10: 122-127.
- Foerster, L.A. & Doetzer, A.K. 2006. Cold storage of the egg parasitoids *Trissolcus basalis* (Wollaston) and *Telenomus podisi* Ashmed (Hymenoptera: Scelionidae). Biological Control 36: 232-237.
- Foerster, L.A.; Doetzer, A.K. & Ferreira de Castro, L.C. 2004. Emergence, longevity and fecundity of *Trissolcus basalis* and *Telenomus podisi* after cold storage in the pupal stage. Pesquisa Agropecuária Brasileira 39: 841-845.
- Fortes, P.; Magro, S.R.; Panizzi, A.R. & Parra, J.R.P. 2006. Development of a dry artificial diet for *Nezara viridula* (L.) and *Euschistus heros* (Fabricius) (Heteroptera: Pentatomidae). Neotropical Entomology 35: 567-572.
- Fraga, C.P. & Ochoa, L.H. 1972. Aspectos morfológicos y bioecológicos de *Piezodorus guildinii* (West.) (Hemiptera, Pent). IDIA Supl 28: 103-117.
- Fretwell, S.D. & Lucas, H.L. 1970. On territorial behaviour and other factors influencing habitat distribution in birds. Acta Biotheoretica 19: 16-36.
- Gamundi, J.C.; Andrian, M.L.L.; Bacigaluppo, D.; Lienzi, L. & Scrimagio, E. 2003. Control químico del complejo de chinches en el cultivo de soja. Informe INTA EEA Oliveros. Protección vegetal

Gamundi, J.C. & Sosa, M.A. 2007. Caracterización de daños de chinches en soja y criterios para la toma de decisiones de manejo. IN: Chinches fitófagas en soja. Revisión y avances en el estudio de su ecología y manejo. Trumper, E.V. & Edelstein, J.D. (Eds.). Ediciones INTA, Manfredi.

Gamundi, J.C. & Sosa, M.A. 2008. Caracterización de daños de chinches en soja y criterios para la toma de decisiones de manejo. IN: Chinches fitófagas en soja. Revisión y avances en el estudio de su ecología y manejo. Trumper, E.V. & Edelstein, J.D. (Eds.). Ediciones INTA, Manfredi.

Ganesalingam, V.K. 1966. Some environmental factors influencing parasitization of the eggs of *Nezara viridula* L. (Pentatomidae) by *Telenomus basalis* Wollaston (Hymenoptera: Scelionidae). Ceylon Journal of Science 6: 1-14.

Gerling, D. 1972. The developmental biology of *Telenomus remus* Nixon (Hym., Scelionidae). Bulletin of Entomological Research 61: 385-388.

Godfray, H.C.J. 1994. Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press. Princeton, N. J.

Godfray, H.C.J.; Müller, C.B. & Kraaijeveld, A.R. 2000. Habitat heterogeneity and the behavioural and population ecology of host-parasitoid interactions. IN: The ecological consequences of ecological heterogeneity. Hutchings, M.J.; John, E.A. & Stewart, A.J.A. (Eds.). Blackwell Science. Oxford. 235pp.

González, A.; Liljesthröm, G.G.; Minervino, E.; Castro, D.; González, S.E. & Armendano, A. 2009. Predation by *Misumenops pallidus* (Keyserling) (Araneae:Thomisidae) on pest insects of soybean cultures in Buenos Aires province, Argentina. Journal of Arachnology 37: 282-286.

Hamilton, G.C. 1967. Extraordinary sex ratios. Science 156: 477-488.

Hance, T.; van Baaren, J.; Vernon, P. & Boivin, G. 2007. Impact of extreme temperatures on parasitoids in a climate change perspective. Annual Review of Entomology 52: 107-126.

Hassell, M.P. 2000. Host-parasitoid population dynamics. Journal of Animal Ecology 69: 543-566.

Hassell, M.P. & May, R.M. 1973. Stability in insect host-parasite models. The Journal of Animal Ecology 42: 693-726.

- Hassell, M.P. & May, R.M. 1974. Aggregation of predators and insect parasites and its effect on stability. *The Journal of Animal Ecology* 43: 567-594.
- Hassell, M.P.; Waage, J.K. & May, R.M. 1983. Variable parasitoid sex ratios and their effect on host-parasitoid dynamics. *Journal of Animal Ecology* 52: 889-904.
- Hawkins, B.A. & Sheehan, W. 1994. Parasitoid community ecology. Oxford University Press. New York, USA. 516pp.
- Henry, L.M.; Roitberg, B.D. & Gillespie, D.R. 2008. Host-range evolution in *Aphidius parasitoids*: fidelity, virulence and fitness trade-offs on an ancestral host. *Evolution* 62: 689-699.
- Higuchi, H. & Suzuki, Y. 1996. Host handling behavior of the egg parasitoid *Telenomus triptus* to the egg mass of the stink bug *Piezodorus hybneri*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 80: 475-479.
- Hochberg, M.E. & Ives, A.R. 2000. Parasitoid population biology. Princeton University Press. New Jersey, US. 366pp.
- Hoffmann, M.P.; Davidson, N.A.; Wilson, L.T.; Ehler, L.E.; Jones, W.A. & Zalom, F.G. 1991. Imported wasp helps control southern green stink bug. *California Agriculture* 45: 20-22.
- Hokkanen, H.M.T. 1986. Polymorphism, parasites, and the native area of *Nezara viridula* (Hemiptera, Pentatomidae). *Annales Entomologici Fennici* 52: 28-31.
- Hokyo, N. & Kiritani, K. 1963. Two species of egg parasites as contemporaneous mortality factors in the egg population of the southern green stink bug, *Nezara viridula*. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology* 7: 214-227.
- Hokyo, N.; Kiritani, K.; Nakasaji, F. & Shiga, M. 1966. Comparative biology of the two scelionid egg parasites of *Nezara viridula* L. (Hemiptera: Pentatomidae). *Applied Entomology and Zoology* 1: 94-102.
- Iannone, N. 2009. Alerta en soja. INTA Pergamino.
- Iannone, N. & Leiva, P.D. 1994. Daños, toma de decisiones y control cultural de chinches en soja. INTA EEA Pergamino. Carpeta de Producción Vegetal XIII.

- James, D.G. & Warren, G.N. 1991. Effect of temperature on development, survival, longevity and fecundity of *Trissolcus oenone* Dodd (Hymenoptera: Scelionidae). *Journal of the Australian Entomological Society* 30: 303-306.
- Jervis, M.A.; Heimpel, G.E.; Ferns, P.N.; Harvey, J.A. & Kidd, N.A.C. 2001. Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of "ovigeny". *Journal of Animal Ecology* 70: 442-458.
- Johnson, N.F. 1984. Systematics of nearctic *Telenomus*: classification and revision of the *podisi* and *phymatae* species groups (Hymenoptera: Scelionidae). *Bulletin of the Ohio Biological Survey* 6(3): 1-113.
- Johnson, N.F. 1985a. Revision of the new world species of the Thyantae group of *Trissolcus* (Hymenoptera: Scelionidae). *The Canadian Entomologist* 117: 107-112.
- Johnson, N.F. 1985b. Systematics of new world *Trissolcus* (Hymenoptera: Scelionidae): species related to *T. basalis*. *Canadian Entomologist* 117: 431-445.
- Johnson, N.F. 1987. Systematics of new world *Trissolcus*, a genus of pentatomid egg-parasites (Hymenoptera: Scelionidae): Neotropical species of the flavipes group. *Journal of Natural History* 21: 285-304.
- Jones, V.P. & Westcot, P. 2002. The effect of seasonal changes on *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) and *Trissolcus basalis* (Wollaston) (Hymenoptera: Scelionidae) in Hawaii. *Biological Control* 23: 115-120.
- Jones, W.A. 1988. World review of the parasitoids of the southern green stink bug, *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). *Annals of the Entomological Society of America* 81: 262-273.
- Keasar, T.; Ney-Nifle, M.; Mangel, M. & Swezey, S. 2001. Early oviposition experience affects patch residence time in a foraging parasitoid. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 98: 123-132.
- Kennedy, G.G. & Storer, N.P. 2000. Life systems of polyphagous arthropod pests in temporally unstable cropping systems. *Annual Review of Entomology* 45: 467-493.
- King, B.H. 1987. Offspring sex ratios in parasitoid wasps. *Quarterly Review of Biology* 62: 367-369.

- Kivan, M. & Kilic, N. 2002. Host preference: parasitism, emergence and development of *Trissolcus semistriatus* (Hym., Scelionidae) in various host eggs. *Journal of Applied Entomology* 126: 395-399.
- Kivan, M. & Kilic, N. 2004. Parasitism and development of *Trissolcus simoni* in eggs of different host species. *Phytoparasitica* 32: 57-60.
- Kivan, M. & Kilic, N. 2005. Effects of storage at low-temperatures of various heteropteran host eggs on the egg parasitoid, *Trissolcus semistriatus*. *BioControl* 50: 589-600.
- Kivan, M. & Kilic, N. 2006. Age-specific fecundity and life table of *Trissolcus semistriatus*, an egg parasitoid of the sunn pest *Eurygaster intergriceps*. *Entomological Science* 9: 39-46.
- La Porta, N.C. 1992. Dinamica poblacional de *Trissolcus basalis* (Wollaston) 1858 (Hymenoptera: Scelionidae). I. Estadísticos vitales. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 50: 1-4.
- La Porta, N.C. 2007. Estudios del sistema: Pentatomidae (Hemiptera) - Scelionidae (Hymenoptera) - cultivo de soja (*Glycine max* L. Merrill), en dos regiones agroclimáticas de Córdoba. Tesis doctoral. Escuela para graduados, Facultad de Ciencias Agropecuarias. UNC, Córdoba, Argentina
- La Porta, N.C. & Crouzel, I.S. 1984. Estudios básicos para el control biológico de *Nezara viridula* (L., 1758) (Hemiptera: Pentatomidae) en la Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 43: 119-143.
- Laumann, R.; Moraes, M.C.B.; Pareja, M.; Alarcao, G.C.; Botelho, A.C.; Maia, A.H.N.; Leonardecz, E. & Borges, M. 2008. Comparative biology and functional response of *Trissolcus spp.* (Hymenoptera: Scelionidae) and implications for stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) biological control. *Biological Control* 44: 32-41.
- Laumann, R.A.; Blassioli Moraes, M.C.; Padilha da Silva, J.; Corrêa Vieira, A.M.; da Silveira, S. & Borges, M. 2010. Egg parasitoid wasps as natural enemies of the neotropical stink bug *Dichelops melacanthus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 45: 442-449.
- Lessells, C.M. 1985. Parasitoid foraging: should parasitism be density dependent? *Journal of Animal Ecology* 54: 27-41.

Liljesthröm, G. & Coviella, C. 1999. Aspectos de la dinámica poblacional de las chinches *Nezara viridula* y *Piezodorus guildinii* e implicancias con relación a su manejo en el cultivo de soja. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina 58: 141-149.

Liljesthröm, G.G. 1983. Algunos aspectos de la demografía de *Nezara viridula* (L.) (Hemiptera: Pentatomidae) en condiciones de laboratorio. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina 42: 383-396.

Liljesthröm, G.G. & Ávalos, D.S. 2009. Nuevas asociaciones entre Trichopodini - Cyndromyini (Diptera: Tachinidae) y Pentatomidae fitófagos (Hemiptera). Actas de la III Reunión Argentina de Parasitoidólogos. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. 26-28/11/2009.

Loch, A.D. & Zalucki, M.P. 1998. Outbreaks of pink wax scale, *Ceroplastes rubens* Maskell (Hemiptera: Coccidae), on umbrella trees in south-eastern Queensland: patterns of parasitisation. Australian Journal of Entomology 37: 328-334.

Logarzo, G.A.; Virla, E.G.; Luft Albarracin, E.; Triapitsyn, S.V.; Jones, W.A.; de León, J.H. & Briano, J.A. 2011. Host range of *Gonatocerus* sp. near *tuberculifemur* 'Clade 1' in Argentina, an egg parasitoid newly associated to the glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera: Cicadellidae), and candidate for its biological control in California, USA. BioControl 57: 37-48.

Loiácono, M.S.; Díaz, N.B. & De Santis, L. 2002. Estado actual del conocimiento de microhimenópteros Chalcidoidea, Cynipoidea y "Proctotrupeoidea" en Argentina. IN: Proyecto de Red Iberoamericana de Biogeografía y Entomología Sistemática. PrIBES 2002. Costa, C.; Vanin, S.A.; Lobo, M.J. & Melic, A.(Eds.). m3m : Monografías Tercer Milenio. Vol. 2. SEA. Zaragoza, España. 230pp.

Lopes, O.J.; Link, D. & Basso, I.V. 1974. Pentatomídeos de Santa Maria - Lista preliminar de plantas hospedeiras. Revista do Centro de Ciências Rurais 4: 317-322.

Lucchetta, P.; Desouhant, E.; Wajnberg, E. & Bernstein, C. 2007. Small but smart: the interaction between environmental cues and internal state modulates host-patch exploitation in a parasitic wasp. Behavioural Ecology and Sociobiology 61: 1409-1418.

Luck, R.F. 1981. Parasitic insects introduced as biological control agents for arthropod pests. IN: Handbook of pest management in agriculture. Pimentel, D.(Ed.). CRC Press. Boca Ratón, Fla, USA.

Luckmann, D. and de Gouvea, A. 2009. Efeito de produtos alternativos sobre o comportamento e a biologia de *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). Programa institucional de iniciação científica (PIBIC). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação. Relatório de atividades (agosto/2009 a julho/2010).

Luna, M.G. & Sánchez, N.E. 1999. Composición específica y abundancia de la comunidad de lepidópteros defoliadores de la soja en el noroeste de Buenos Aires, Argentina. Revista de la Sociedad Entomológica Argentina 58: 67-75.

Mackauer, M. 1990. Host discrimination and larval competition in solitary endoparasitoids. IN: Critical issues in biological control. Mackauer, M.; Ehler, L.E. & Roland, J.(Eds.). Intercept Ltd. Andover, UK. 62pp.

Mackauer, M. & Völkl, W. 1993. Regulation of aphid populations by aphidiid wasps: does parasitoid foraging behaviour or hyperparasitism limit impact? Oecologia 94: 339-350.

Mahmoud, A.M.A. & Lim, U.T. 2007. Evaluation of cold-stored eggs of *Dolycoris baccarum* (Hemiptera: Pentatomidae) for parasitization by *Trissolcus nigripedius* (Hymenoptera: Scelionidae). Biological Control 43: 287-293.

Manly, B.F.J.; McDonald, L.L. & Thomas, D.L. 1993. Resource selection by animals: statistical design and analysis for field studies. Chapman and Hall. London, UK.

Marris, G.C. & Casperd, J. 1996. The relationship between conspecific parasitism and the outcome of *in vitro* contests staged between different larval instars of the solitary endoparasitoid *Venturia canescens*. Behavioural Ecology and Sociobiology 39: 61-69.

Masner, L. 1976. Revisionary notes and keys to world genera of Scelionidae (Hymenoptera: Proctotrupoidea). The Entomological Society of Canada. Ottawa. 87pp.

Masner, L. 1980. Key to genera of Scelionidae of the Holarctic region, with descriptions of new genera and species (Hymenoptera: Proctotrupoidea). The Entomological Society of Canada. Ottawa.

- Masner, L. 1995. The Proctotrupoid families. IN: The Hymenoptera of Costa Rica. Hanson, P.E. & Gauld, I.D.(Eds.). The Natural History Museum. London Oxford. 246pp.
- Massoni, F. & Frana, J. 2005. Tiempo de desarrollo de *Piezodorus guildinii* (Heteroptera: Pentatomidae) en condiciones naturales. Informe INTA EEA Rafaela Miscelánea 104: 97-99.
- Massoni, F. and Frana, J. 2006a. Ciclo biológico de la chinche de la alfalfa (*Piezodorus guildinii*) en el cultivo de soja. Campañas 2004/05, 2005/06 y 2006/07. Publicación Miscelánea - INTA - EE Rafaela: 153-161.
- Massoni, F. and Frana, J. 2006b. Duración de los estados inmaduros de la chinche de la alfalfa (*Piezodorus guildinii*) en el cultivo de soja. Publicación Miscelánea - INTA - EE Rafaela: 159-162.
- Massoni, F. and Frana, J. 2006c. Enemigos naturales del complejo de chinches fitófagas y evaluación de su acción ecológica en un cultivo de soja. Publicación Miscelánea - INTA - EE Rafaela: 163-165.
- Massoni, F. & Frana, J. 2010. Evaluación del daño de trips, mosca blanca y arañuela, sobre el rendimiento del cultivo de soja. Campaña 2008/2009. INTA EEA Rafaela. Informacion tecnica cultivos de verano. Campaña 2010 Publicación miscelánea N° 118:
- Massoni, F.; Frana, J. & Trumper, E.V. 2008. Desarrollo de *Piezodorus guildinii* en el cultivo de soja. IN: Chinches fitófagas en soja. Revisión y avances en el estudio de su ecología y manejo. Trumper, E.V. & Edelstein, J.D. (Eds.). Ediciones INTA, Manfredi.
- May, R.M. 1978. Host-parasitoid systems in patchy environments: a phenomenological model. Journal of Animal Ecology 47: 833-843.
- McNamara, J.M. & Houston, A.I. 1990. State-dependent ideal free distributions. Evolutionary Ecology 4: 298-311.
- McNamara, J.M. & Houston, A.I. 1992. State-dependent life-history theory and its implications for optimal clutch size. Evolutionary Ecology 6: 170-185.
- Molinari, A. 2005. Control biológico. Especies entomófagas en cultivos agrícolas. Ediciones INTA. Centro Regional Santa Fe. EEA Oliveros. 80pp.

Molinari, A.; La Porta, N.C. & Massoni, F. 2007. Parasitoides (Hymenoptera y Diptera) de hemípteros fitófagos. IN: Chinchas fitófagas en soja. Revisión y avances en el estudio de su ecología y manejo. Trumper, E.V. & Edelstein, J.D. (Eds.). Ediciones INTA, Manfredi.

Molinari, A.; La Porta, N.C. & Massoni, F. 2008. Parasitoides (Hymenoptera y Diptera) de hemípteros fitófagos. IN: Chinchas fitófagas en soja. Revisión y avances en el estudio de su ecología y manejo. Trumper, E.V. & Edelstein, J.D. (Eds.). Ediciones INTA, Manfredi.

Murdoch, W.W. 1977. Stabilizing effects of spatial heterogeneity in predator-prey systems. *Theoretical Population Biology* 11: 252-273.

Murdoch, W.W. & Oaten, A. 1975. Predation and population stability. *Advances in Ecological Research* 9: 1-131.

Musolin, D.L. & Numata, H. 2003. Photoperiodic and temperature control of diapause induction and colour change in the southern green stink bug *Nezara viridula*. *Physiological Entomology* 28: 65-74.

Musolin, D.L.; Tougou, D. & Fujisaki, K. 2010. Too hot to handle? Phenological and life-history responses to simulated climate change of the southern green stink bug *Nezara viridula* (Heteroptera: Pentatomidae). *Global Change Biology* 16: 73-87.

Nation, J.L. 2008. *Insect physiology and biochemistry*. Taylor & Francis. 544pp.

Noble, N.S. 1937. An egg parasite of the green vegetable bug. *Agricultural Gazette of New South Wales* 48: 337-341.

Nordlund, D.A.; Lewis, W.J. & Gueldner, R.C. 1983. Kairomones and their use for management of entomophagous insects. XIV. Response of *Telenomus remus* to abdominal tips of *Spodoptera frugiperda*, (Z)-9-tetradecene-1-ol acetate and (Z)-9-dodecene-1-ol acetate. *Journal of Chemical Ecology* 9: 695-701.

North Dakota State University. 2011. Hymenoptera parasitoid records. http://www.ndsu.nodak.edu/ndsu/rider/Pentatomoidea/Natural_Enemies/parasitoid_Hymen_Pent.htm. consultada el 28 de junio de 2011.

- Okuda, M.S. & Yeargan, K.V. 1988a. Habitat partitioning by *Telenomus podisi* and *Trissolcus euschisti* (Hymenoptera: Scelionidae) between herbaceous and woody host plants. *Environmental Entomology* 17: 795-798.
- Okuda, M.S. & Yeargan, K.V. 1988b. Intra- and interspecific host discrimination in *Telenomus podisi* and *Trissolcus euschisti* (Hymenoptera: Scelionidae). *Annals of the Entomological Society of America* 81: 1017-1020.
- Orr, D.B. 1988. Scelionid wasps as biological control agents: a review. *Florida Entomologist* 71: 506-528.
- Orr, D.B.; Boethel, D.J. & Jones, W.A. 1985. Development and emergence of *Telenomus chloropus* and *Trissolcus basalis* Stink (Hymenoptera: Scelionidae) at various temperatures and relative humidities. *Annals of the Entomological Society of America* 78: 615-619.
- Outreman, Y.; Le Ralec, A.; Wajnberg, E. & Pierre, J.S. 2001. Can imperfect host discrimination explain partial patch exploitation in parasitoids? *Ecological Entomology* 26: 271-280.
- Pacheco, D.J.P. & Corrêa-Ferreira, B.S. 1998. Potencial reprodutivo e longevidade do parasitóide *Telenomus podisi* Ashmead, em ovos de diferentes espécies de percevejos. *Anais Sociedade Entomológica do Brasil* 27: 585-591.
- Paes Bueno, V.H. 2009. Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade. UFPA - Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG, Brasil. 430pp.
- Panizzi, A.R. 1992. Performance of *Piezodorus guildinii* on four species of *Indigofera* legumes. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 63: 221-228.
- Panizzi, A.R. 1997. Wild hosts of pentatomids: ecological significance and role in their pest status on crops. *Annual Review of Entomology* 42: 99-122.
- Panizzi, A.R.; Postali, J.R.; Santos, C.H. & Rodriguez Carvalho, D. 2000. Rearing the southern green stink bug using an artificial dry diet and an artificial plant. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35: 1709-1715.
- Panizzi, A.R. & Slansky Jr, F. 1985a. Legume host impact on performance of adult *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae). *Environmental Entomology* 14: 237-242.

- Panizzi, A.R. & Slansky Jr, F. 1985b. New host plant records for the stink bug *Piezodorus guildinii* in Florida (Hemiptera: Pentatomidae). *Florida Entomologist* 68: 215-216.
- Panizzi, A.R. & Slansky Jr, F. 1985c. *Piezodorus guildinii* (Hemiptera: Pentatomidae): an unusual host of the tachinid *Trichopoda pennipes*. *Florida Entomologist* 68: 485-486.
- Papaj, D.R. 2000. Ovarian dynamics and host use. *Annual Review of Entomology* 45: 423-448.
- Parra, J.R.P. & Cônsoli, F.L. 2009. Criação massal e controle de qualidade de parasitoides de ovos. IN: Controle biológico de pragas: produção massal e controle de qualidade. Bueno, V.H.P.(Ed.). Editora UFLA (Universidade Federal de Lavras). Lavras, MG, Brasil. 197pp.
- Peres, W.A.A. & Corrêa-Ferreira, B.S. 2004. Methodology of mass multiplication of *Telenomus podisi* Ash. and *Trissolcus basal* (Woll.) (Hymenoptera: Scelionidae) on eggs of *Euschistus heros* (Fab.) (Hemiptera: Pentatomidae). *Neotropical Entomology* 33: 457-462.
- Peri, E.; Sole, M.A.; Wajnberg, E. & Colazza, S. 2006. Effect of host kairomones and oviposition experience on the arrestment behavior of an egg parasitoid. *Journal of Experimental Biology* 209: 3629-3635.
- Perotti, E.; Gamundi, J.C. & Russo, R. 2010. Control de *Piezodorus guildinii* (Westwood) en el cultivo soja. Para mejorar la producción - INTA EEA Oliveros 45: 109-116.
- Pigliucci, M. 2001. Phenotypic plasticity: beyond nature and nurture. The Johns Hopkins University Press. Baltimore, Maryland, EUA. 328pp.
- Ploper, L. & Devani, M.R. 2002. La roya de la soja: principales aspectos de la enfermedad y consideraciones sobre su manejo. AAPRESID. Rosario, Santa Fe, Argentina. 55pp.
- Powell, J.E. & Shepard, B.M. 1982. Biology of australian and united states strains of *Trissolcus basal*, a parasitoid of the green vegetable bug *Nezara viridula*. *Austral Ecology* 7: 181-186.
- Powell, W. 1986. Enhancing parasitoid activity in crops. IN: Insect parasitoids. Waage, J.K. & Greathead, D.(Eds.). Academic Press. London. 340pp.
- Puttler, B. 1974. *Hypera postica* and *Bathyplectes curculionis*: encapsulation of parasite eggs by host larva in Missouri and Arkansas. *Environmental Entomology* 3: 881-882.

- Quicke, D.L.J. 1997. Parasitic wasps. Chapman & Hall. London, UK. 470pp.
- Rabb, R.L. & Bradley, J.R. 1970. Marking host eggs by *Telenomus sphingus*. Annals of the Entomological Society of America 63: 1053-1056.
- Reinhardt, K.; Köhler, G. & Schumacher, J. 1999. Females of the grasshopper *Chorthippus parallelus* (Zett.) do not remate for fresh sperm. Proceedings of the Royal Society of London B 266: 2003-2009.
- Ribeiro, A. & Castiglioni, E. 2008. Caracterización de las poblaciones de enemigos naturales de *Piezodorus guildinii* (Westwood) (Hemiptera: Pentatomidae). Agrociencia 12: 48-56.
- Roitberg, B.D.; Boivin, G. & Vet, L.E.M. 2001. Fitness, parasitoids, and biological control: an opinion. Canadian Entomologist 133: 429-438.
- Rosenheim, J.A. 1999. The relative contributions of time and eggs to the cost of reproduction. Evolution 53: 376-385.
- Rosenheim, J.A.; Kaya, H.K.; Ehler, L.E.; Marois, J.J. & Jaffe, B.A. 1995. Intraguild predation among biological-control agents: theory and evidence. Biological Control 5: 303-335.
- Rosenheim, J.A. & Mangel, M. 1994. Patch-leaving rules for parasitoids with imperfect host discrimination. Ecological Entomology 19: 374-380.
- Ryan, R.B.; Mortensen, R.W. & Torgersen, G.R. 1981. Reproductive biology of *Telenomus californicus* Ashmead, an egg parasite of the douglas-fir tussock moth: laboratory studies. Annals of the Entomological Society of America 74: 213-216.
- Salt, G. 1935. Experimental studies in insect parasitism. VI. Host suitability. Proceedings of the Royal Society of London B 117: 223-246.
- Salt, G. 1961. Competition among insect parasitoids. Symposium of the Society of Experimental Biology 15: 96-119.
- Sands, D.P.A. & Papacek, D.F. 1993. Specificity requirements for biological control agents. IN: Pest control and sustainable agriculture. Corey, S.A.; Dall, D.J. & Milne, W.M.(Eds.). Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. Canberra. 495pp.

Schell, S.C. 1943. The biology of *Hadronotus ajax* Girault (Hymenoptera-Scelionidae), a parasite of squashbug (*Anasa tristis* Degeer). Annals of the Entomological Society of America 36: 625-635.

Schowalter, T. 2006. Insect Ecology. An Ecosystem Approach. Academic press. 576pp.

Serra, G.V. & La Porta, N.C. 2001. Aspectos biológicos y reproductivos de *Piezodorus guildinii* (West.) (Hemiptera: Pentatomidae) en condiciones de laboratorio. Agriscientia 18: 51-57.

Servicio Meteorológico Nacional (Argentina). 2011. Boletín agrometeorológico. <http://www.smn.gov.ar/?mod=agro&id=11> consultado el 15/09/2011

Servicio Meteorológico Nacional (Argentina). 2011. Información meteorológica histórica. <http://www.smn.gov.ar/?mod=clima&id=20> consultado el 02/11/2011

Shepard, B.M.; Elsey, K.D.; Muckenfuss, A.E. & Justo, J.D.J. 1994. Parasitism and predation on egg masses of the southern green stink bug *Nezara viridula* L. (Heteroptera: Pentatomidae), in tomato, okra, cowpea, soybean and wild radish. Journal of Agricultural Entomology 11: 375-381.

Shirazi, J. 2006. Investigation on the in vitro rearing of *Trissolcus grandis* an egg parasitoid of *Eurygaster integriceps* by use of artificial diet. Pakistan Journal of Biological Sciences 9 2040-2047.

Silva dos Santos, R.S. 2008. Levantamento populacional de percevejos e da incidência de parasitóides de ovos em cultivos orgânicos de soja. Pesquisa Agropecuária Gaúcha 14: 41-46.

Sinclair, B.J. & Rajamohan, A. 2008. Slow or stepped rewarming after acute low-temperature exposure does not improve survival of *Drosophila melanogaster* larvae. Canadian Entomologist 1280: 306-311.

Sistema Integral de Información Agropecuaria, M. A. G. y P. 2011. Estadísticas. Agricultura. <http://www.siiia.gov.ar/index.php/series-por-tema/agricultura>. consultado el 26/05/2011.

Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. 1995. Biometry. W.H. Freeman & Co. New York. 887pp.

Sosa, M.A. & Parra, R.R. 1994. Dinámica de la población de chinches fitófagas en el cultivo de soja en el noreste de la provincia de Santa Fe. Publicación Técnica - INTA - EE Reconquista 9.

Sosa-Gómez, D.R. & da Silva, J.J. 2010. Neotropical brown stink bug (*Euschistus heros*) resistance to methamidophos in Paraná, Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 45: 767-769.

Sosa-Gomez, D.R.; Corso, I.C. & Morales, L. 2001. Insecticide resistance to endosulfan, monocrotophos and metamidophos in the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.). *Neotropical Entomology* 30: 317-320.

Stiling, P.D. 1987. The frequency of density dependence in insect host-parasitoid systems. *Ecology* 68: 844-856.

Strand, M.R. & Obrycki, J.J. 1996. Host specificity of insect parasitoids and predators. *BioScience* 46: 422-429.

Strand, M.R. & Vinson, S.B. 1983. Host acceptance behavior of *Telenomus heliothidis* (Hymenoptera: Scelionidae) toward *Heliothis virescens* (Lepdoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America* 76: 781-785.

Strong, D.R. 1989. Density dependence in space and inconsistent temporal relationships for host mortality caused by a fairyfly parasitoid. *Journal of Animal Ecology* 58: 1065-1076.

Sujii, E.R.; Costa, M.L.M.; Pires, C.S.; Colazza, S. & Borges, M. 2002a. Inter- and intra-guild interactions in egg parasitoid species of the soybean stink bug complex. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37: 1541-1549.

Sutherland, W.J. 1983. Aggregation and the 'ideal free' distribution. *Journal of Animal Ecology* 52: 821-828.

Thomazini, M.J. 2001. Insetos associados a cultura da soja no estado do Acre, Brasil. *Acta Amazonica* 31: 673-681.

Tillman, P.G. & Powell, J.E. 1992. Interspecific discrimination and larval competition among *Microplitis demolitor*, *Cotezia kazak* (Hym.:Braconidae), and *Hyposoter didymator* (Hym.: Ichneumonidae), parasitoids of *Heliothis virescens* (Lep.: Noctuidae). *Entomophaga* 37: 439-451.

Toledo, C.; Anglada, M. & Salusso, A. 2005. Productos fitosanitarios utilizados en las últimas campañas agrícolas para el control de plagas insectiles en soja. INTA EEA PARANÁ. Actualización Técnica SOJA. Serie Extensión 34.

- Turlings, T.C.; van Batenburg, F.H.D. & van Strien-van Liempt, W.F.T.H. 1985. Why is there no interspecific host discrimination in the two coexisting larval parasitoids of *Drosophila species*; *Leptopilina heterotoma* (Thomson) and *Asobara tabida* (Nees). *Oecologia* 67: 352-359.
- van Baaren, J.; Boivin, G. & Nenon, J.P. 1994. Intra- and interspecific host discrimination in two closely related egg parasitoids. *Oecologia* 100: 325-330.
- van den Bosch, R. & Telford, A.D. 1964. Environmental modification and biological control. IN: *Biological control of insect pests and weeds*. DeBach, P. (Ed.). Chapman & Hall. London. 488pp.
- van Driesche, R.G. & Murray, T.J. 2004. Parameters used in laboratory host range test. IN: *Assessing host ranges for parasitoids and predators used for classical biological control: a guide to best practice*. van Driesche, R.G. & Reardon, R. (Eds.). USDA Forest Service. Morgantown. 67pp.
- van Lenteren, J.C. 2011. The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl*. DOI 10.1007/s10526-011-9395-1.
- van Lenteren, J.C. & Bueno, V.H.P. 2003. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. *BioControl* 48: 123-139.
- van Lenteren, J.C.; Cock, M.J.W.; Hoffmeister, T.S. & Sands, D.P.A. 2006. Host specificity in arthropod biological control, methods for testing and interpretation of the data. IN: *Environmental impact of invertebrates for biological control of arthropods: methods and risk assessment*. Bigler, F.; Babendreier, D. & Kuhlmann, U. (Eds.). CABI Bioscience. Switzerland. 63pp.
- Venzon, M.; Ferreira, J.A.M. & Rippasati, J.G. 1999. Parasitism of stink bug eggs (Hemiptera: Pentatomidae) of soybean fields in the Triângulo Mineiro, Minas Gerais, Brazil. *Revista de Biología Tropical* 47: 1007-1013.
- Vet, L.E.M.; Meyer, M.; Bakker, K. & van Alphen, J.J.M. 1984. Intra- and interspecific host discrimination in *Asobara* (Hymenoptera) larval parasitoids of Drosophilidae: comparison between closely and less closely related species. *Animal Behaviour* 32: 871-874.
- Vicentini, R. & Jimenez, J.A. 1977. El vaneo de los frutos en soja. IN: *V Reunión Técnica Nacional de Soja*. Miramar, Buenos Aires, Argentina. 89pp.

- Vinson, S.B. 1975. Biochemical coevolution between parasitoids and their host. IN: Evolutionary strategies of parasitic insects and mites. Price, P.W. (Ed.). Plenum Press. New York. 48pp.
- Vinson, S.B. 1976. Host selection by insect parasitoids. Annual Review of Entomology 21: 109-133.
- Vinson, S.B. 1998. The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. Biological Control 11: 79-96.
- Vinson, S.B.; Bin, F. & Vet, L.E.M. 1998. Critical issues in host selection by insect parasitoids. Biological Control 11: 77-78.
- Visser, M.E.; Jones, T.H. & Driessen, G. 1999. Interference among insect parasitoids: a multi-patch experiment. Journal of Animal Ecology 68: 108-120.
- Vivan, L.M. & Panizzi, A.R. 2005. Nymphal and adult performance of genetically determined types of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae), under different temperature and photoperiodic conditions. Neotropical Entomology 34: 911-915.
- Volkoff, N. & Colazza, S. 1992. Growth patterns of teratocytes in the immature stages of *Trissolcus basalis* (Wool.) (Hymenoptera: Scelionidae), an egg parasitoid of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae). International Journal of Insect Morphology and Embryology 21: 323-336.
- Vos, M. & Vet, L.E.M. 2004. Geographic variation in host acceptance by an insect parasitoid: genotype versus experience. Evolutionary Ecology Research 6: 1021-1035.
- Wäckers, F.L. 2003. The parasitoids' need for sweets: sugar in mass rearing and biological control. IN: Quality control and production of biological control agents. Theory and testing procedures. van Lenteren, J.C. (Ed.). CABI Publishing. Cambridge, USA.
- Walde, S.J. & Murdoch, W.W. 1988. Spatial density dependence in parasitoids. Annual Review of Entomology 33: 441-466.
- Wang, X. & Messing, R.H. 2003. Egg maturation in the parasitoid *Fopius arisanus* (Hymenoptera: Braconidae): do host-associated stimuli promote ovarian development? Annals of the Entomological Society of America 96: 571-578.

Weisser, W.W. & Houston, A.I. 1993. Host discrimination in parasitic wasps: When is it advantageous? *Functional Ecology* 84: 214-268.

Whitfield, J.B. 2003. Phylogenetic insights into the evolution of parasitism in Hymenoptera. *Advances in Parasitology* 54: 69-100.

Whitman, D.W. & Nordlund, D.A. 1994. Plant chemicals and the location of herbivorous arthropods by their natural enemies . IN: *Functional dynamics of phytophagous insects*. Ananthakrishnan, T.N. (Ed.). Oxford and IBH Publishing. New Delhi. 248pp.

Yeargan, K.V. 1982. Reproductive capability and longevity of the parasitic wasps *Telenomus podisi* and *Trissolcus euschisti*. *Annals of the Entomological Society of America* 75: 181-183.

Yeargan, K.V. 1983. Effects of temperature on developmental rate of *Trissolcus euschisti* (Hymenoptera: Scelionidae), a parasite of stink bug eggs. *Annals of the Entomological Society of America* 76: 339-342.

Zwölfer, H. 1971. The structure and effect of parasite complexes attacking phytophagous host insects. IN: *Dynamics of numbers in populations: Proceedings of the advanced study institute on "Dynamics of numbers in populations"*. den Boer, P.J. & Gradwell, G.R. (Eds.). Center for Agricultural Publishing and Documentation. Wageningen, The Netherlands. 418pp.

La Plata, 08 de marzo de 2012

Dra. Patricia Cecilia Pereyra
Secretaria de Postgrado
de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo
S/D

Tengo el agrado de dirigirme a Usted a fin de enviarle las correcciones de mi Tesis Doctoral, las cuales fueron propuestas por dos de los tres jurados, y a continuación se detallan. Se utilizó la numeración de páginas, párrafos y renglones de la primera versión del manuscrito, para facilitar el seguimiento de cada punto.

Correcciones y sugerencias de la Dra. Loiácono:

- Los términos “parasitismo” y “multiparasitismo” fueron reemplazados en todos los casos por los términos “parasitoidismo” y “multiparasitoidismo”.
- Se realizaron todas las correcciones de bibliografía indicadas.
- Se agregaron las fotografías sugeridas para la página 25.
- Se unificó el tipo de letra de los subtítulos.
- Los términos “chinche” y “chinchas” fueron colocados entre comillas en todas las ocasiones.
- Se realizaron todas las correcciones de edición en el texto sugeridas desde la página 1 hasta la 118.
- El término sceliónidos fue reemplazado en todos los casos por el término esceliónidos.
- Se reemplazó el término “opérculo agujereado” por “opérculo con orificio” en todos los casos.
- Se toma en consideración la sugerencia de utilizar la nueva clasificación Hymenoptera: Platygasteridae para futuras publicaciones.

Correcciones y sugerencias del Dr. Trumper:

Introducción general

- Pag. 13: se cambió el término “evitarían” por el término “evitan”, formulando la hipótesis como una afirmación.
- Pag. 13: Se aclaró a qué especies se hacía referencia en la página 13, con el término “ambas especies”.

Capítulo 2

- Se integraron las hipótesis del capítulo 2, junto con sus predicciones, a la sección “Introducción general”.
- Se unificó la utilización del término “hospedantes” para hacer referencia a las plantas en las que habitan los insectos fitófagos.
- Pag. 33: se cambió la frase “conducirían a falta de densodependencia” por la frase sugerida “conducirían a densoindependencia”.
- Pag. 33: se reelaboró la redacción del texto referente al parasitismo densoindependiente.
- Pag. 33: se ampliaron los conceptos que conducían a afirmar que “en el caso de los sceliónidos..., se esperaría una respuesta densoindependiente ...”.
- Pag. 33: se corrigió la redacción del objetivo 1 del capítulo 2, según la sugerencia del Dr. Trumper.
- Pag. 33: respecto del objetivo 2 del capítulo 2, se explicitaron los cultivos “alfafa y trébol rojo”. Esta aclaración se encuentra fundamentada en la introducción del capítulo, mencionándose la importancia de otros cultivos al influir en el desempeño de sus enemigos naturales en el marco de las interacciones tritróficas. Por otra parte, se aclaró que el objetivo se refiere a la fluctuación de “posturas” de *P. guildinii*.
- Pag. 33: el foco de esta tesis doctoral es analizar el parasitismo de huevos de *P. guildinii*. Sin embargo, a fin de caracterizar todos los recursos disponibles para los parasitoides que atacan a *P. guildinii*, que podrían afectar el parasitismo principalmente cuando el hospedador preferido es escaso, se incluyó la evaluación de las otras

especies de pentatómidos presentes en el sistema. Esto está incluido en el primer objetivo de este capítulo, por lo cual no se considera necesario modificar el enunciado del objetivo 3.

- Pag. 34: se agregó toda la información requerida por el Dr. Trumper en Materiales y Métodos.
- Pag. 35: se reemplazó “muestreo” por “muestra” en los casos que correspondían.
- Pag. 35-36 y pag. 42-43: aceptando la sugerencia del Dr. Trumper, se usaron modelos lineales generalizados para analizar la relación de la variables de respuesta (proporción de huevos parasitados/postura y los indicadores de parasitismo) con las variables predictoras (cultivos y temporadas), cuando no se cumplieron los supuestos de normalidad y homoscedasticidad. Todas las variables toman valores en el rango entre 0 y 1. Según el análisis de gráficos Q-Q, se eligió el modelo Poisson con función de enlace “log”, y el modelo Normal con función de enlace “log” para la proporción de huevos parasitados/postura y los indicadores de parasitismo EDP, EP e IP, respectivamente.
- Pag. 37: se mejoró el aspecto de la tabla 2.1.
- Pag. 38: se mejoró la redacción y las comparaciones de abundancia se hicieron solamente dentro de cada cultivo a lo largo del tiempo. Entre cultivos solo se hace mención al momento de colonización de cada uno por las “chinchas”.
- Se aclaró la leyenda de la figura 2.1.
- Pag. 40: Originalmente se pensó hacer un análisis de tramas tróficas cuantitativas, pero debido al tiempo disponible para entregar el manuscrito final, se decidió dejar la trama cualitativa. Si bien no se calcularon las medidas que representan la complejidad de las tramas tróficas (conectancia, densidad de uniones, tasa de especies, índices de dominancia, etc.) en las figuras 2.2 y 2.3 se observa un menor número de especies y de interacciones en el cultivo de alfalfa que en el de soja.
- Pag. 46: se agregó un párrafo que menciona el efecto de las altas temperaturas en las temporadas en que las precipitaciones fueron

escasa. Además se incluyó un gráfico que relaciona ambos factores secuencialmente para cada temporada.

- Pag. 49: tal como se indica en Materiales y métodos, las posturas recolectadas a campo que fueron encontradas ya emergidas (con opérculo abierto) fueron consideradas para estimar el impacto de los parasitoides en su conjunto, los indicadores particulares para cada especie se calcularon considerando solamente las posturas de las cuales se registró la emergencia de los parasitoides en el laboratorio. Por lo tanto el número de posturas para calcular estos índices es diferente al primero.
- Pag. 51: a escala espacial de la planta, el número de posturas fue 0 ó 1 (en ningún caso se registró más de una posturas por planta). Paralelamente se realizó un ensayo manipulativo a campo en dos temporadas para el evaluar el parasitismo a esta escala espacial, pero en uno de ellos se produjo una lluvia torrencial inmediatamente luego de colocadas las posturas perdiéndose el material. Dado la cantidad de posturas frescas (con menos de 48h) necesarias, este ensayo no pudo repetirse en la misma temporada. En la otra temporada el parasitismo fue muy bajo, y no se obtuvieron datos suficientes para analizar el parasitismo a esta escala. El análisis de densodependencia a escala de la muestra debería hacerse igualmente en un momento dado para minimizar el efecto de la dinámica temporal de las especie, y solo se tomó una muestra por fecha.
- Pag. 51: se incorporó información referente a la tasa de fecundidad de las especies de parasitoides encontradas en este trabajo.

Capítulo 3

- Se modificó el título del capítulo 3 quedando “Desempeño de los parasitoides oófagos sobre huevos de *Piezodorus guildinii* y de *Nezara viridula* como hospedador alternativo”.
- La respuesta funcional de los parasitoides es una característica de importancia al momento de caracterizar la interacción con su hospedador, sin embargo los experimentos no fueron diseñados con este fin. La variación de tamaño entre las posturas ofrecidas fue muy pequeña (se utilizaron posturas enteras extraídas al azar de la colonia

de “chinchas”), y no hubo réplicas de diferentes tamaños previamente seleccionados.

- Las sugerencias del Dr. Trumper para la discusión de este capítulo fueron incluidas en el capítulo de discusión general, considerando que el capítulo 3 tiene una discusión adecuada.
- Pag. 57: se reformuló el objetivo 1 de este capítulo.
- Pag. 58: se explicitó con mayor detalle la unidad experimental.
- Pag. 60: se corrigió la figura 3.1, donde había un error en las letras que indican diferencias significativas.
- Pag. 62: se corrigió la redacción del párrafo que explica el análisis de la proporción de sexos de la progenie.
- Pag. 63: se corrigió la numeración de la figura indicada.
- Pag. 65-66: se corrigieron las leyendas de las figuras 3.4, 3.5 y 3.6.
- Pag. 67: se corrigió la redacción del primer párrafo de la discusión de este capítulo.
- Pag. 70: se corrigió la redacción del renglón 5.
- Pag. 71: con respecto al comentario de la página 71 es oportuno aclarar que los ensayos realizados fueron de no elección.
- Pag. 72: se corrigió el error de la mención al capítulo correspondiente.

Capítulo 4

- Se corrigió y completó la redacción de las hipótesis y del primer párrafo de la discusión.
- Pag. 82: La comparación de individuos emergidos a partir de los huevos multiparasitados se realizó para cada tratamiento (*T. podisi* primero + *T. urichi* segundo, y *T. urichi* primero + *T. podisi* segundo) por separado. El número de individuos emergidos de una y otra especie se comparó con el número esperado de individuos emergidos de cada especie, estimado como la mitad del número de huevos multiparasitados.
- El cálculo de la relación de forraje y la comprobación de la hipótesis nula por χ^2 se realizan para cada réplica (postura) (Krebs, 1999). En este estudio se estimó el promedio de dicha relación para el total de réplicas de cada tratamiento, y sobre este valor se realizó la

comprobación de la hipótesis nula por χ^2 . A partir del comentario del Dr. Trumper se repensó sobre esta metodología, entendiéndose que con la misma se pierde información sobre la variabilidad de las réplicas. Por esto se decidió cambiar el análisis comparando el promedio de las relaciones de forrajeo con un valor único (1) (Sokal & Rohlf, 1995), mediante el test de t. En este caso los resultados indican que no se puede rechazar la hipótesis nula ($\hat{w}_i=1$) al 5% de probabilidad.

- Pag. 87: el término “hospedador óptimo” hace referencia a una postura no parasitada.

Capítulo 5

- Se decidió tratar la información presentada en esta sección en un capítulo independiente, separado del capítulo 3, ya que se consideró que de ese modo se facilitaría la interpretación de la misma por parte del lector, y que la extensión del capítulo 3 sería más adecuada de esa manera. Por otra parte, se estimó que la temática desarrollada se encuadra en un marco teórico propio, que ameritaba su abordaje en un capítulo independiente.
- Se amplió, en la introducción del capítulo, la información respecto de antecedentes en referencia a temperaturas experimentales de conservación de huevos de pentatómidos, la cual estaba presentada en la discusión.
- La decisión de fijar el tratamiento en -18°C se basó en que, si bien a partir de los antecedentes los resultados obtenidos a distintas temperaturas (desde 5°C hasta $-195,8^{\circ}\text{C}$) y lapsos (desde 8 días hasta un año) de conservación fueron variables en las distintas especies de esceliónidos ensayadas, la temperatura elegida resultó en general adecuada. Por otra parte, esta temperatura de conservación (en freezer) resulta una tecnología práctica y factible de ser aplicada con fines prácticos para crías masivas para el control biológico aumentativo.
- Pag. 94: se aclaró en la sección materiales y métodos que los huevos utilizados en el tratamiento “huevos frescos” provenían de la misma


población de “chinchas” adultas que se utilizó para obtener los huevos utilizados en el otro tratamiento de este experimento (“huevos conservados en freezer”).

- Pag. 94: se aclaró en la sección materiales y métodos que para ambos tratamientos se comparó el desempeño de avispas hembras con 24h como adulto.
- Pag. 98: se reemplazó el término “huevos sanos” por “huevos frescos”.

Consideraciones finales

- En la versión final de esta tesis se incluyó un capítulo denominado “Consideraciones finales”.


Sin otro particular, aprovecho la ocasión para saludarla atentamente.



G. Lilipalwörn
Director



.....
Lic. M. Fernanda Cingolani



Francisco
CO-Directora